



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina Veterinaria

Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

**Composición bioquímica del fluido folicular en los
diferentes estadios de crecimiento folicular en alpacas**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Gianmarco Gabriel TAPIA MATEO

ASESOR

Mg. Wilfredo HUANCA LÓPEZ

Lima, Perú

2018

DEDICATORIA

A mis padres, Gabriel Tapia e Hilda Mateo, por su apoyo incondicional durante mi carrera universitaria y por brindarme los valores para mi formación personal y académica.

A mis hermanos Katia y Bryan por tantos momentos juntos compartidos y por su aliento en el desarrollo de la presente investigación.

A toda la familia Tapia y Mateo, en especial a mi abuelita Elena Mateo, siempre estarás en mi mente y corazón.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Wilfredo Huanca por haberme dado la oportunidad de desarrollar este trabajo bajo su dirección. También agradecerle su apoyo, consejos y comprensión durante la realización del trabajo.

Al Team que me apoyó durante el desarrollo de la parte práctica de la tesis, en especial al Dr. Alfredo Pozo, Alvaro, Cecibel, Melissa, Abiel, Nancy, Giovany, Nathalie, Rassiel, Renato y Josías. Y a mi gran amigo Fred por su ayuda en la parte final de la tesis.

A la Universidad Nacional Mayor de San Marcos mi alma mater, por darme la oportunidad de formarme académicamente.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y a todos los docentes, por sus enseñanzas y conocimientos impartidos en clase para mi desarrollo profesional.

A mis compañeros de aula y amigos de la universidad, por todas las vivencias en estos seis años de carrera, en especial a Miguel, Alvaro, Gerald, Melissa, Cecibel, Carito y Grecia ¡Gracias por su amistad!

Al Dr. Juan Zevallos y a todo el personal del Centro de Investigación y Producción Chuquibambilla–Puno, por las facilidades brindadas en la ejecución de la presente investigación

Al proyecto: “Efecto del estadio de desarrollo de la onda folicular sobre la respuesta ovárica, tasa de recuperación y calidad de embriones en alpacas”, Contrato N° 405-PNICP-PIAP-2014, por el financiamiento del presente trabajo.

ÍNDICE

RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	ix
LISTADO DE CUADROS	x
LISTADO DE FIGURAS	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1 Generalidades de los CSA.....	3
2.2 Taxonomía de la alpaca.....	5
2.3 Anatomía del aparato reproductor.....	6
2.4 Fisiología reproductiva.....	8
2.4.1 Pubertad	8
2.4.2 Estacionalidad reproductiva	9
2.4.3 Comportamiento sexual	10
2.4.4 Control neuroendocrino en la reproducción.....	11
2.4.5 Dinámica folicular.....	13
2.4.6 Ovulación	16
2.5 Importancia y composición del fluido folicular	18
2.5.1 Formación y desarrollo del antro folicular	18
2.5.2 Origen del fluido folicular.....	19
2.5.3 Aspectos cuantitativos de la formación de fluido folicular	19
2.5.4 La barrera hemato-folicular.....	20
2.5.5 Características bioquímicas del fluido folicular	20
2.5.6 Funciones del fluido folicular	22
2.6 Técnicas de asistencia reproductiva	23

2.6.1 Ultrasonografía.....	23
2.6.2 “Sincronización hormonal de la onda folicular”	24
III. MATERIAL Y MÉTODO	25
3.1 Lugar de estudio.....	25
3.2 Animales	25
3.3 Procedimiento Metodológico	26
3.3.1 Pre - Evaluación ecográfica	26
3.3.2 Sincronización de la onda folicular	26
3.3.3 Identificación de grupos	26
3.3.4 Aspiración del fluido folicular	28
3.3.5 Análisis bioquímico	29
3.3.6 Análisis estadístico.....	29
IV. RESULTADO	30
V. DISCUSION.....	33
VI. CONCLUSION	40
VII. BIBLIOGRAFIA.....	41
VIII. APÉNDICE.....	52

RESUMEN

El trabajo tuvo como finalidad determinar la concentración de glucosa, proteínas totales, albúmina, colesterol y triglicéridos en el fluido folicular; en los tres estadios del desarrollo folicular. Se utilizaron 27 alpacas del CIP Chuquibambilla de la UNA – Puno, las que fueron evaluadas mediante un ecógrafo Aloka SSD 500 y un transductor lineal de 7.5 MHz. Los animales fueron sometidos a un procedimiento de sincronización de la onda folicular a la presencia de un folículo ≥ 7 mm, y a los 9 días post-sincronización fueron identificados en tres grupos específicos: G1 (folículo ≥ 7 mm en estadio de crecimiento), G2 (folículo ≥ 7 mm en estadio de estática) y G3 (folículo ≥ 7 mm en estadio de regresión). Seguidamente, se procedió a la aspiración del fluido folicular del folículo dominante; después el fluido fue centrifugado y el sobrenadante colocado en viales. Las muestras fueron almacenadas en nitrógeno líquido hasta su análisis, que fue realizado mediante kits comerciales específicos (FAR Diagnostics, Italia) y un analizador bioquímico semiautomático; en el laboratorio de fisiología de la UNMSM. Los resultados obtenidos fueron: glucosa 37.04, 41.19 y 30.07 (mg/dl); proteínas totales 1.65, 1.93 y 1.79 (g/dl); albúmina 1.14, 1.42 y 1.31 (g/dl); colesterol 15.82, 18.3 y 11.08 (mg/dl); triglicéridos 11.3, 12.35 y 10.78 (mg/dl). Con la excepción de la glucosa, no hubo diferencias significativas en los demás componentes entre los estadios de desarrollo folicular. La concentración de la glucosa entre el estadio de regresión y estática fue diferente ($p < 0.05$), siendo menor el valor en el estadio de regresión. La misma tendencia fue observada en el colesterol; sin embargo no hubo diferencia significativa entre dichos estadios. Estos resultados indicarían que en el estadio de regresión se produciría una disminución de algunos componentes bioquímicos, lo que podría repercutir en deficiencias reproductivas cuando la ovulación ocurra en el estadio en mención.

Palabras clave: Alpaca, estadios foliculares, fluido folicular, ecografía, glucosa, regresión

ABSTRACT

The objective of this research was to determine the concentration of glucose, total proteins, albumin, cholesterol and triglycerides in the follicular fluid, in the three stages of follicular development. 27 alpacas from the CIP Chuquibambilla of the UNA - Puno were evaluated by an Aloka SSD 500 ultrasound and a 7.5 MHz linear transducer. These animals were subjected to a procedure of synchronization of the follicular wave in the presence of a follicle ≥ 7 mm, and at 9 days post-synchronization were identified in three specific groups: G1 (follicle ≥ 7 mm in growth stage), G2 (follicle ≥ 7 mm in the static stage) and G3 (follicle ≥ 7 mm in the regression stage). After that, the follicular fluid of the dominant follicle was aspirated; then the fluid was centrifuged and the supernatant placed in vials. The samples were stored in liquid nitrogen until their analysis, which was carried out using specific commercial kits (FAR Diagnostics, Italy) and a semi-automatic biochemical analyzer; in the physiology laboratory of the UNMSM. The results were: glucose 37.04, 41.19 and 30.07 (mg / dl); total proteins 1.65, 1.93 and 1.79 (g / dl); albumin 1.14, 1.42 and 1.31 (g / dl); cholesterol 15.82, 18.3 and 11.08 (mg / dl); triglycerides 11.3, 12.35 and 10.78 (mg / dl). Except for glucose, there were no significant differences in the other components between the stages of follicular development. The concentration of glucose between the regression and static stage was different ($p < 0.05$), the value in the regression stage was lower than the other. The same trend was observed in cholesterol; however, there was no significant difference between mentioned stages. These results would indicate that there would be a decrease of some biochemical components in the regression stage, which could have repercussions in reproductive deficiencies when ovulation occurs in the aforementioned stage.

Key words: Alpaca, follicular stages, follicular fluid, ultrasound, glucose, regression

LISTADO DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1.-	
Comparación de los estadios de la onda folicular, intervalo interonda y características del folículo dominante establecidos en camélidos sudamericanos.....	15
Cuadro 2.-	
Identificación de grupos.....	27
Cuadro 3.-	
Diámetro folicular al momento de la aspiración del fluido folicular según el estadio de desarrollo folicular.....	30
Cuadro 4.-	
Tasa de recuperación del fluido folicular ovárico.....	31
Cuadro 5.-	
Valores bioquímicos del fluido folicular de glucosa, proteínas totales, albúmina, colesterol y triglicéridos según su estadio de desarrollo folicular ovárico.....	32

LISTADO DE FIGURAS

	Pág.
Fig. 1.-	
Clasificación de los camélidos.....	5
Fig. 2.-	
Aparato reproductor de la alpaca hembra.....	7
Fig. 3.-	
Representación esquemática de ondas foliculares en alpacas y llamas.....	12
Fig. 4.-	
Esquema de eventos endocrinológicos después de la cópula.....	17
Fig. 5.-	
Diseño del estudio.....	27
Fig. 6.-	
Valores de glucosa folicular en el estadio de crecimiento, estática y regresión.....	32

I. INTRODUCCIÓN

Los camélidos sudamericanos (CSA) representan un recurso pecuario y genético de gran importancia social, económica, cultural y científica para los países de la Región Andina (FAO, 2005). En el contexto de la ganadería peruana, la crianza de alpacas es considerada una actividad necesaria para la gran mayoría de la población andina ya que permite la obtención de carne y fibra (Fernández-Baca, 1991).

A lo largo del tiempo estos animales han adquirido una capacidad notoria de adaptación a las condiciones adversas medioambientales establecidas en el altiplano andino. Su hábitat está ubicado entre los 3 800 y 5000 m.s.n.m., alimentándose de pasturas de mala calidad nutricional debido a la naturaleza del suelo y la erosión. Aún bajo condiciones adversas son capaces de convertir con eficiencia la vegetación nativa en fibra de una calidad excepcional, además de carne con alto contenido proteico; en un territorio geográfico donde la crianza de otros animales domésticos no es viable (Fernández-Baca, 1991; Aba, 2014).

Pese a la resistencia y rusticidad, su productividad se ha visto disminuida por la baja eficiencia reproductiva, tal es el caso de la baja tasa de gestación originada por diversos factores; siendo el principal la elevada mortalidad embrionaria, que incluso puede alcanzar hasta un 50% en los primeros 30 días de gestación (Fernández-Baca *et al.*, 1970).

Esta situación ha llamado la atención sobre la necesidad de mejorar la eficiencia reproductiva mediante el desarrollo de nuevas técnicas y conocimientos sobre la reproducción

(Aba, 2014). En este sentido, el estudio del fluido folicular es fundamental puesto que proporciona el microentorno para el desarrollo de los ovocitos; así mismo es lógico pensar que su composición bioquímica puede desempeñar un papel en la determinación de la calidad de los ovocitos y el potencial para lograr el desarrollo embrionario (Albohomsen *et al.*, 2011, Wallace *et al.*, 2012).

El fluido folicular es en parte exudado de suero y también esta parcialmente compuesto de sustancias producidas localmente, que están relacionadas con la actividad metabólica de las células foliculares (Gerard *et al.*, 2002). La actividad metabólica y las propiedades de barrera de la sangre en el folículo cambian durante la fase de crecimiento del folículo (Wise, 1987, Gosden *et al.*, 1988), por lo que podría esperarse una composición bioquímica diferente del fluido folicular según el estadio de desarrollo folicular.

La actividad ovárica en los camélidos se presentan en ciclos de desarrollo folicular semejante a lo evidenciado en otros mamíferos pero sin la presencia de un cuerpo lúteo; el desarrollo folicular se ha clasificado en tres estadios: crecimiento, estática y regresión (Vaughan *et al.*, 2004).

En alpacas existe limitada información sobre la composición del fluido folicular, por ello el estudio de los componentes bioquímicos del fluido folicular en los diferentes estadios de desarrollo folicular, brindará un conocimiento valioso sobre los cambios que ocurren en el entorno del ovocito durante el desarrollo del folículo; pudiendo utilizarse como un parámetro de evaluación de la calidad de los ovocitos, que estaría directamente relacionado con la fertilidad (Matoba *et al.*, 2014). El objetivo del presente estudio es determinar la concentración de glucosa, proteínas totales, colesterol y triglicéridos; en los estadios de crecimiento, estática y regresión.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Generalidades de los CSA

La Republica del Perú cuenta con una población de 3 685 500 alpacas, superando en 50.2% a la encontrada en el censo agropecuario de 1994. La variedad Huacaya concentra el 80.4% de la población total, seguida de la variedad Suri con 12.2%. En cuanto a los otros camélidos, cuenta con 1 204 277 llamas y 198 074 vicuñas a nivel nacional (INEI, 2013). Todas las especies de CSA sólo se encuentran en el Perú, así mismo ocupa el primer lugar en el mundo en la tenencia de alpacas y vicuñas y el segundo lugar en llamas, después de Bolivia (FAO, 2005)

Los camélidos sudamericanos han constituido un pilar importante para el desarrollo y supervivencia de las poblaciones del altiplano desde los inicios del Incanato, en ese entonces se encontraban distribuidos en un mayor territorio nacional, incluida la costa. En el periodo de la colonización española ocurrió una caza elevada de estos camélidos y a su vez fueron desplazados por animales domésticos, como resultado se produjo una disminución en número de ejemplares y su crianza se vio relegada y limitada a la región altoandina (Wheeler *et al.*, 1995; Mengoni, 2008).

Estos animales se han adaptado a las condiciones precarias del altiplano, consumiendo pastos de baja calidad; y aun así produciendo fibra con gran finura y carne de alto nivel nutricional; por ello la explotación de esta especie es considerada la principal actividad productiva para las poblaciones de los andes, puesto que la agricultura y crianza de otras especies diferentes a los camélidos sudamericanos es limitada debido a las condiciones medioambientales (FAO, 2005).

Dentro de los camélidos sudamericanos, la alpaca es considerada la de mayor relevancia económica por su fibra de alta calidad, la cual es muy valorada por las empresas textiles. En la actualidad, según el MINAGRI (2017) el mayor fabricante de fibra de alpaca a nivel mundial es el Perú, superando incluso a países como Bolivia y Chile.

Las primeras investigaciones en camélidos sudamericanos comenzaron a mediados del siglo pasado, debido a que las haciendas de mayor envergadura tenían interés por la explotación de estos animales; sin embargo, pese al conocimiento adquirido en estos últimos años, aún existen muchas falencias en el manejo. Todavía se continúan empleando esquemas tradicionales de crianza y son muy pocos los ganaderos que emplean el conocimiento técnico adecuado.

Los sistemas existentes de manejo son extrapolaciones de técnicas de crianza desarrolladas para otras especies animales. Esta situación se produce por falta de mecanismos de difusión y capacitación de los conocimientos adquiridos en los últimos años de investigación; así mismo es necesario un conocimiento más avanzado de la fisiología, salud, nutrición, etc. que posibiliten el establecimiento de una base necesaria para el desarrollo de una tecnología de crianza alpaquera (Sumar y García, 1986).

Por otra parte, en 1984 hubo una salida importante de camélidos sudamericanos de alta calidad a países como Nueva Zelanda, Australia y Estados Unidos; a consecuencia de ello quedaron muy pocos ejemplares reproductores de alta calidad genética, lo que produjo a su vez que sea mas complicado la obtención de estos animales para los productores del altiplano por su elevado costo en el mercado. Esta situación obligo a desarrollar nuevas alternativas tecnológicas que permitan favorecer una reproducción eficiente y rápida de las pocas alpacas con elevada calidad genética que quedarán en el Perú (Sumar, 2007).

Se ha intentado mejorar la calidad genética a través de la conformación de núcleos reproductores y el desarrollo de pruebas de progenie, sin embargo estas tomarían muchos años de estudio debido al largo intervalo generacional, puesto que las alpacas solo pueden producir de 4 a 5 crías durante su vida reproductiva. (Novoa, 1999). De tal manera que son necesarias nuevas alternativas de biotecnología reproductiva como la fecundación in vitro, la transferencia de embriones, etc. con el objetivo de incrementar el numero de ejemplares de elevada calidad genética. En este contexto, el conocimiento de la composición bioquímica del fluido folicular podría

proporcionar información sobre la maduración del ovocito y el potencial para lograr el desarrollo embrionario.

2.2 Taxonomía de la alpaca

La alpaca se clasifica taxonómicamente en: Reino: Animalia; Filo: Chordata; Clase: Mammalia; Orden: Artiodactyla; Suborden: Ruminantia; Infraorden: Tylopoda; Familia: Camelidae; Género: *Vicugna*; Especie: *Vicugna pacos* (Wheeler, 2006).

Todas las especies de camélidos sudamericanos pertenecen a la Tribu Lamini, mientras que los camélidos del viejo mundo son considerados dentro de la tribu Camelini (Wheeler, 1995). (Figura 1)

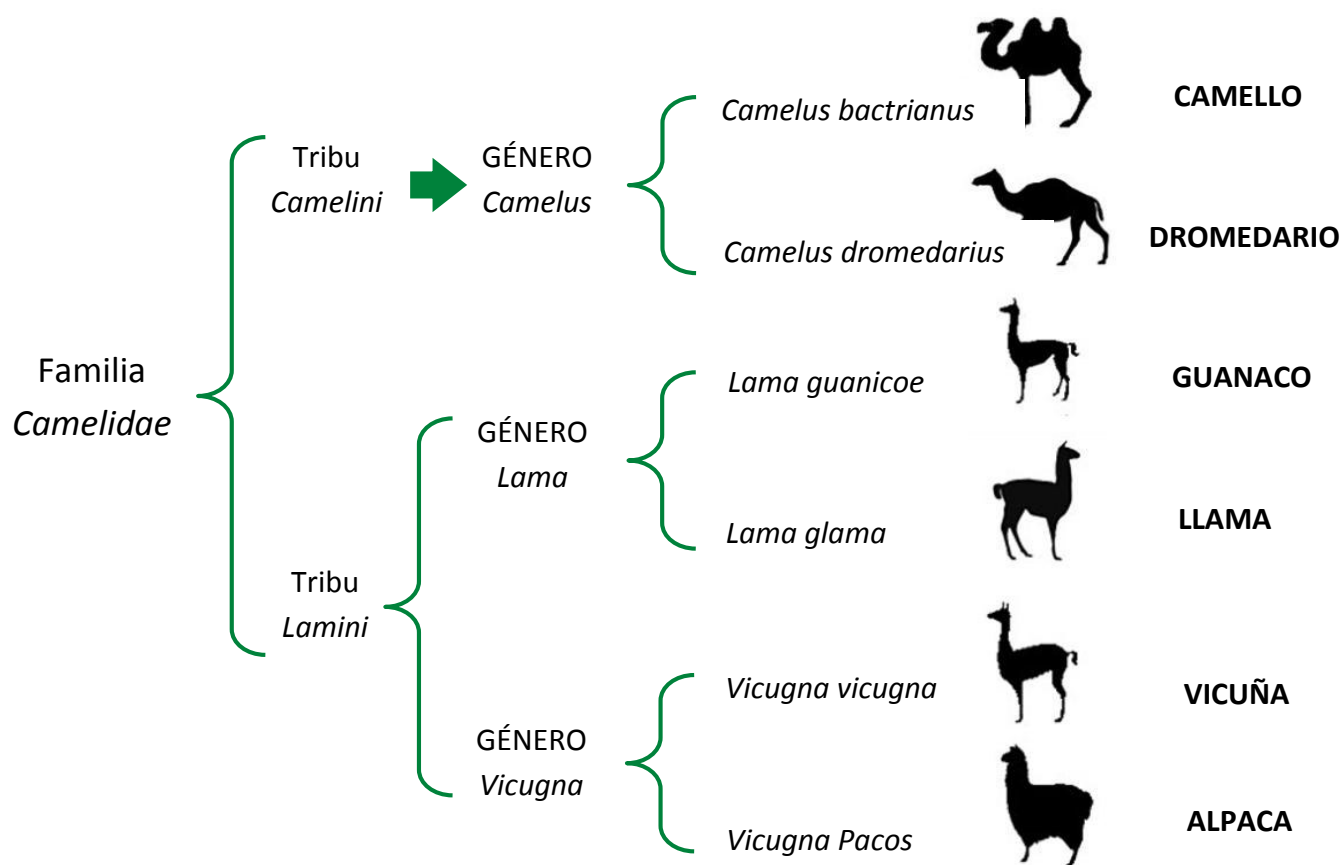


Figura 1. Clasificación de los camélidos (Wheeler, 2006).

2.3 Anatomía del aparato reproductor

Los ovarios son órganos pares localizados a nivel del borde anterior de la cavidad pelviana, dispuestos dorsolateralmente a los cuernos uterinos y aproximadamente a 17 cm de la hendidura vulvar (Sato y Montoya, 1990). Presentan una forma ovalada y globular; su tamaño, forma y peso varían de acuerdo a la edad y a las estructuras que conforman el ovario. Su longitud varía de 5 a 12 mm, y tiene un peso promedio de 2.4 gramos (Sumar, 1985; Sato y Montoya, 1990).

En alpacas inmaduras la superficie ovárica se encuentra lisa, por el contrario, las hembras adultas presentan una superficie irregular debido a los folículos en diferentes fases de desarrollo y al cuerpo lúteo (Elwishy, 1992). Cada ovario se encuentra rodeado por un pliegue de mesosálpinx conocido como *bursa ovarii*, esta estructura presenta una región apical que forma una abertura comunicante entre la fimbria del oviducto y el ovario (Bravo *et al.*, 2002).

Los oviductos se caracterizan por ser dos conductos sinuosos y delgados, de 10 - 12 cm de largo (Sato *et al.*, 1986). Comprende tres partes: la extremidad ovárica denominada infundíbulo, la parte media que presenta un trayecto tortuoso con un diámetro de 2mm y una extremidad uterina que se une al cuerno uterino mediante un orificio angosto que forma una papila protuberante (Sumar, 1996).

La alpaca presenta un útero bicornes con forma de Y, localizado a nivel del canal pélvico o en el borde pélvico interno en estado no grávido. Se encuentra constituido por tres estructuras: cuernos uterinos, cuerpo y cérvix. El cuerno uterino presenta una longitud promedio de 7.5 cm, el cuerpo se caracteriza por ser muy corto (Sato y Montoya, 1990). La apariencia de los cuernos cambia dependiendo del estado del ovario. Siendo relativamente rectos y con mayor tono uterino durante la fase estrogénica, mientras que en el dominio de progesterona (fase luteínica) se vuelve flácida (Tibary, 2001; Aba, 2014). El cuello del útero o cérvix es similar al de la vaca, esta formada por dos a tres pliegues en forma de anillos (Smith *et al.*, 1994).

La vagina tiene un diámetro aproximado entre 3.5 y 5 cm y una longitud que oscila entre 13 y 15 cm (Sumar, 1985). Tiene la capacidad de extenderse; por lo que cuando ocurre la gestación, los pliegues longitudinales desaparecen producto del peso que ejerce el útero. El himen, marca la separación anatómica entre vulva y vagina.

La vulva constituye la estructura final del tracto genital. La hendidura vulvar presenta una longitud de aproximadamente 3 cm y se encuentra en dirección ventro-caudal. Los labios vulvares son apenas prominentes, de bordes redondeados y generalmente son pigmentados. La comisura labial dorsal es ligeramente redondeada, se encuentra a unos 2 cm del ano. La comisura labial ventral se caracteriza por ser aguda y terminar en proyección cónica (Sato y Montoya, 1990; Bravo *et al.*, 2000).

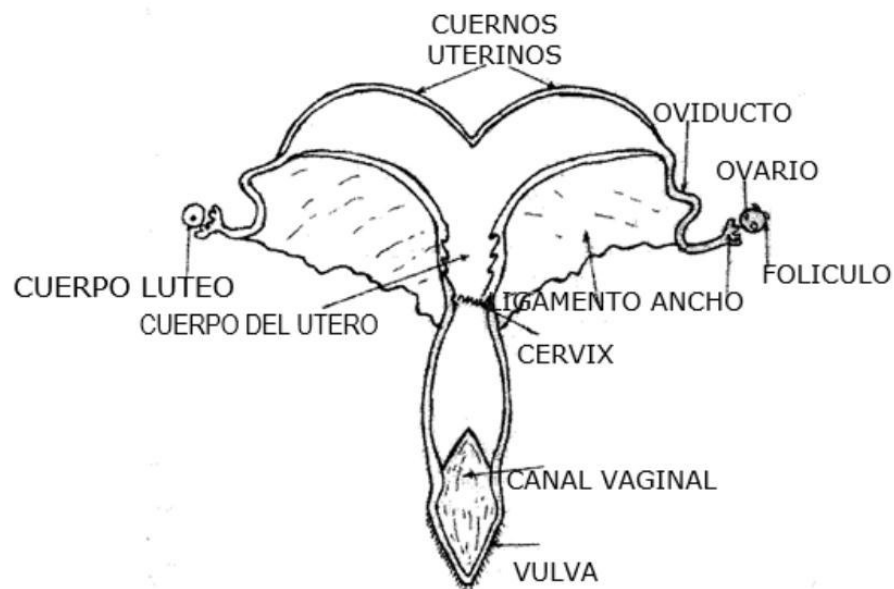


Figura 2. Aparato reproductor de la alpaca hembra

2.4 Fisiología reproductiva

2.4.1 Pubertad

La capacidad de liberar gametos viables y la expresión de un comportamiento sexual completo son características de la alpaca cuando ha alcanzado la pubertad plena (Hafez, 2002). La inactividad hipotalámica se encarga de mantener el estado prepuberal, mediante un mecanismo de retroalimentación negativa originado por los estrógenos de ovario sobre el pulso generador de GnRH. Este efecto disminuye a medida que la alpaca alcanza la pubertad, cambiando paulatinamente a un efecto de retroalimentación positiva producida por un incremento de los niveles de gonadotropinas (Kinder *et al.*, 1987). En síntesis, la aparición de la pubertad en la alpaca depende directamente de la capacidad de las neuronas hipotalámicas de generar GnRH en concentraciones adecuadas, para impulsar y mantener el proceso de gametogénesis (Sumar, 2000)

Las alpacas en su mayoría son receptivas a partir del primer año de edad, no obstante, se ha visto en algunas alpacas de 10 meses la presencia de folículos de 5mm de diámetro, por lo que la actividad folicular comenzaría mucho antes en esta especie (Novoa *et al.*, 1972).

El conocimiento actual sugiere que la pubertad esta muy influenciada por el estado nutricional y las condiciones ambientales. En su hábitat natural, la edad de la pubertad se refleja en la disponibilidad de forraje y en el momento del nacimiento en relación con la estación húmeda. La escasez nutricional durante el desarrollo temprano retrasa la pubertad (Aba, 2014).

La condición corporal es un factor relevante para alcanzar la madurez reproductiva; se asume que la alpaca debe alcanzar dos tercios de su peso adulto, es decir aproximadamente 33 kg de peso vivo (Smith, 1985; Sumar, 1985), a fin de reducir riesgos de retraso en el crecimiento de la madre y posibles distocias (Vaughan *et al.*, 2006).

Las alpacas suelen presentar su primera gestación desde los 12 meses cuando se encuentren en un estado nutricional óptimo (Fernández-Baca, 1972a; Novoa *et al.*, 1972). No obstante; bajo las condiciones adversas del medio ambiente y de las pasturas del altiplano peruano, es frecuente que se produzca un retraso en la gestación que prolonga su inicio hasta los 2 años de edad. Las alpacas presentan una mortalidad embrionaria aproximada de 50% (Fernández-Baca *et al.*, 1970), por lo que

solamente la mitad de alpacas empadradas a los 2 años tendrán su primera cría aproximadamente a los 3 años de edad (Fernández-Baca, 1974).

2.4.2 Estacionalidad reproductiva

La estación del año no altera la actividad ovárica ni la cantidad de folículos presentes en los ovarios (Bravo y Sumar, 1989), así mismo la receptividad sexual, la ovulación, la fertilización y las tasas de supervivencia embrionaria no varían en consideración (Fernández-Baca *et al.*, 1972a). Debido a que las alpacas se reproducen con éxito en cualquier periodo del año son considerados reproductores no estacionales (Sumar, 2000).

En su hábitat natural, los andes peruanos, generalmente muestran actividad sexual durante los meses cálidos y lluviosos de noviembre a abril, cuando la disponibilidad de alimentos aumenta naturalmente y es de mejor calidad. La estacionalidad reproductiva durante estos meses estaría mas relacionada al manejo y a la abundancia de pastos, que de una influencia de la estación sobre la fisiología reproductiva (Novoa, 1991). Se ha visto que las alpacas criadas en hábitats más suaves y donde se cumplen los requisitos nutricionales, son sexualmente activas durante todo el año (Schmidt, 1973). Tal es el caso de alpacas en Nueva Zelanda donde su tasa de concepción en primavera fue similar a la alcanzada en otoño (Knight *et al.*, 1992). Las alpacas pueden preñar y parir en cualquier época del año en América del Norte, sin embargo se evita la reproducción durante los meses más calurosos y durante el invierno (Smith *et al.*, 1994; Sumar y Adams, 1997b; Tibary y Memon, 1999).

Se ha demostrado que la asociación continua de machos y hembras por más de 15 días origina un efecto que inhibe la conducta sexual de las alpacas machos; inclusive provocando la ausencia de la libido en algunos casos (Sumar, 1985, 1996). A pesar de ello, al ser introducidos a un rebaño diferente de hembras, recuperan su conducta y actividad sexual de manera inmediata, esto explicaría la estacionalidad reproductiva en tales condiciones a pesar que la alpaca es sexualmente activa durante todo el año en separación de sexos (Fernández-Baca *et al.*, 1972b).

Los mecanismos responsables del efecto inhibitor sobre la libido del macho resultante de la exposición continua a las hembras no están completamente definidos. Sin embargo, se considera

que podrían intervenir algunos factores olfativos o visuales, debido a la capacidad de influir sobre los centros nerviosos que se encargan de controlar la conducta reproductiva (Brown, 2000).

2.4.3 Comportamiento sexual

Los camélidos sudamericanos son clasificados como animales de ovulación inducida y a diferencia de otras especies no presentan un ciclo estral completamente definido. En el periodo de apareamiento y sin la presencia de machos, las alpacas hembras permanecen sexualmente receptivas por largos periodos de hasta 36 días, teniendo cortas interrupciones que no llegan a sobrepasar los 2 días (San Martín *et al.*, 1968).

La receptividad sexual se manifiesta en dos fases: cortejo y monta, la primera fase ocurre cuando el macho sexualmente activo tiene contacto con alguna hembra. El tiempo del cortejo esta influenciado por la fortaleza y la libido del macho; pudiendo durar entre unos segundos hasta 10 minutos (England *et al.*, 1971).

La alpaca en estado de receptividad sexual, se posiciona en decúbito esternal en presencia del macho aceptando la cópula. Así mismo, es frecuente observar grupos de hembras receptivas que asuman la posición decúbito esternal cerca a animales en apareamiento (Fernández-Baca *et al.*, 1971; Novoa, 1991; Sumar, 1997a). La cópula en posición decúbito esternal es una característica única de los camélidos; también es posible que se posicionen en decúbito lateral, pero es menos frecuente (Sumar y Adams, 1997b).

Ocasionalmente, algunas hembras montan a un macho durante el apareamiento, o a otras hembras que se encuentren echadas de modo que puede formarse una larga cadena de hembras en recumbencia esternal una encima de otra. En algunos casos las hembras pueden realizar movimientos pélvicos parecidos a los que hace el macho al momento de la cópula, aunque dicha acción no llega a producir la ovulación (Smith *et al.*, 1994; Sumar y Adams, 1997b). Las alpacas machos manifiestan su excitación durante la cópula con movimiento temblorosos de las orejas, dilatación de las fosas nasales y mediante ruidos guturales llamados “orgling” (Novoa, 1970). Según Bravo *et al.*, 1994, estos ruidos participarían sobre la descarga preovulatoria de LH.

Durante la cópula, el macho penetra el cuello del útero y deposita el semen mediante eyaculaciones múltiples en los cuernos uterinos utilizando movimientos suaves (Franco *et al.*, 1981).

El tiempo de cópula es variable; en empadre controlado se registra $17,5 \pm 12,1$ minutos y en empadre libre $8,1 \pm 5,4$ minutos (Novoa, 1991). El tiempo de la cópula esta influenciada por: la cantidad de machos al momento del empadre, edad de las hembras, jerarquía, época del año, entre otros. (Knight *et al.*, 1992; Pollard *et al.*, 1999; Vaughan, 2001).

No existiría una relación directa entre el tiempo de cópula y la inducción de la ovulación (Fernández-Baca *et al.*, 1970). Las hembras que se aparearon durante solo 5 minutos mostraron tasas de ovulación similares a las que tenían servicios ininterrumpidos. No se evidenció diferencias en la duración de la cópula entre las alpacas que preñan (15.6 ± 2.0 min) y las que no logran preñar (14.33 ± 6.4 min) (Knight *et al.*, 1992).

La receptividad de los camélidos sudamericanos esta relacionado con el grado de desarrollo de los folículos (San Martin *et al.*, 1968; Fernández-Baca, 1971), no obstante, dicha receptividad no siempre se encuentra bajo la influencia del folículo de mayor tamaño (Sumar *et al.*, 1993b; Bravo *et al.*, 1994).

2.4.4 Control neuroendocrino en la reproducción

El control reproductivo en la alpaca hembra se encuentra establecido por una coacción entre hormonas producidas por diversas glándulas endocrinas. La GnRH es liberada de forma pulsátil desde el hipotálamo, para actuar sobre los receptores localizados a nivel de las células de la hipófisis anterior; teniendo bajo control la síntesis de hormonas gonadotróficas hipofisarias (Brooks y McNeilly, 1996) que se encargan de regular la actividad ovárica, la liberación de estrógenos y la fase ovulatoria (Arthur *et al.*, 1991; Hafez, 2002).

La FSH estimula el crecimiento y desarrollo de los folículos ováricos hasta alcanzar la forma preovulatoria. Sus receptores están localizados en las células de la granulosa, donde se produce la conversión de andrógenos a estrógenos a través de un sistema denominado aromatasa. El pico de LH es necesario para que se produzca la ovulación; en un inicio estimula la producción de testosterona ya que presenta receptores localizados en las células de la teca interna, donde se dará la conversión de colesterol a andrógenos. A medida que se acerca la ovulación comienzan a aparecer receptores para LH en las células de la granulosa (Senger, 2005).

El folículo dominante crece y se produce el incremento de la concentración de estrógeno, el cual ejerce una retroalimentación positiva sobre la secreción pulsátil de GnRH a nivel del hipotálamo, así mismo, eleva la cantidad de receptores para GnRH en la hipófisis y seguidamente se produce liberación preovulatoria de LH (Hafez, 2002).

El pico preovulatorio de LH cumple la función de producir la ruptura del folículo con la consiguiente liberación del ovocito (Fernández-Baca, 1971); las células de la granulosa y teca del folículo preovulatorio se luteinizan para la conformación del cuerpo lúteo; éste último se encarga de producir la progesterona que tendrá una acción de retroalimentación negativa sobre el hipotálamo, evitando la liberación de GnRH y desensibilizando a las células secretoras de gonadotropinas al efecto de la GnRH (Stevenson, 1997).

En condiciones que no se produzca la fertilización, los estrógenos producidos por el folículo dominante permitirán una mayor presencia de receptores de oxitocina a nivel úterino; así mismo, la oxitocina inducirá la formación de prostaglandina F2 α para producir la luteólisis (Leyva, 1996). Posteriormente los valores de progesterona disminuyen junto con su acción inhibitoria a nivel del hipotálamo y la hipófisis, lo que permite que resurjan los valores de LH para dar inicio a un nuevo ciclo ovárico (Stevenson, 1997).

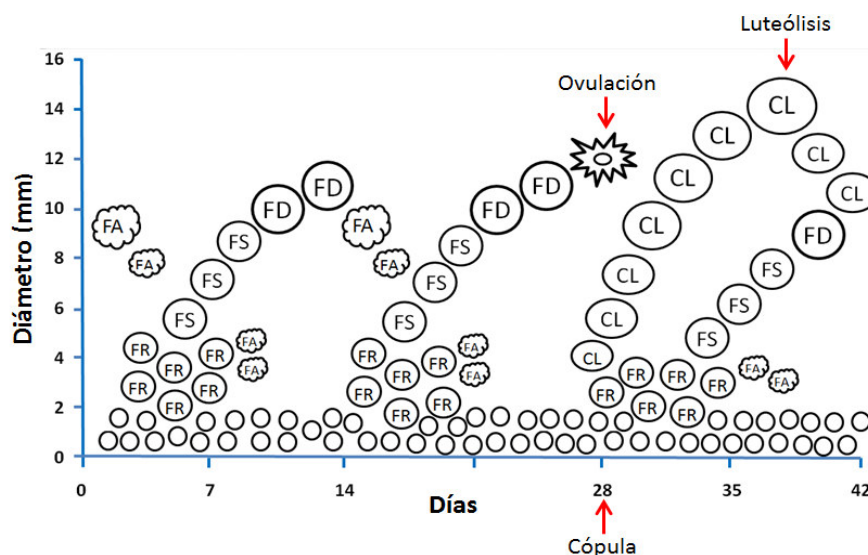


Figura 3. Representación esquemática de ondas foliculares en alpacas y llamas

El fracaso en la concepción conduce a la luteólisis del cuerpo lúteo. FR = folículo reclutado, FS = folículo seleccionado, FD = folículo dominante, FA = folículo atresico, CL = cuerpo lúteo. Modificado de Senger (2005)

2.4.5 Dinámica folicular

En alpacas, los estudios laparoscópicos y ecográficos han demostrado (Vaughan *et al.*, 2004), que en ausencia de machos, presentan un patrón continuo de folículos en crecimiento establecido como ondas foliculares anovulatorias (Skidmore *et al.*, 1995). La onda folicular empieza con el reclutamiento de una cohorte (8-10) de folículos antrales pequeños, los cuales poseen un desarrollo sincrónico hasta que uno de ellos es seleccionado (Vaughan *et al.*, 2004); seguidamente continúa su crecimiento, se diferencia y alcanza el tamaño preovulatorio (≥ 7 mm), mientras que los demás folículos de la cohorte regresionan (Bravo *et al.*, 1990a; Fernández-Baca, 1993). A diferencia de otras especies este folículo preovulatorio, no llegará a la ovulación ni formará un cuerpo lúteo en ausencia de cópula; de modo que el folículo se atresia al término de la onda folicular (Sumar, 2000).

El crecimiento folicular comienza con la emergencia o reclutamiento de un grupo de folículos de aproximadamente de 2 a 3 mm de tamaño. Inmediatamente se continúa con el proceso de selección el cual posiblemente este relacionado con el aumento de LH, puesto que el folículo dominante presenta una mayor cantidad de receptores para LH en comparación con los folículos que no son seleccionados (Gigli *et al.*, 2006).

El folículo dominante continúa creciendo y suprime el crecimiento de los folículos de menor tamaño (Bravo *et al.*, 1990a) de ambos ovarios (Savio *et al.*, 1993). Es probable que este efecto surja producto de la secreción de inhibina por parte del folículo dominante sobre los folículos subordinados (Tibary y Memon, 1999; Tibary, 2001). En alpacas, Vaughan *et al.* (2004) determinó una condición inversa entre el diámetro folicular dominante y la cantidad de los folículos de menor tamaño; de igual manera se evidencio esta relación en llamas (Adams *et al.*, 1990), guanacos (Riveros *et al.*, 2010) y vicuñas (Miragaya *et al.*, 2004).

Se ha descrito en alpacas la existencia de una relación entre el diámetro folicular con el nivel sanguíneo de 17β -estradiol (Bravo *et al.*, 1990a). En este sentido, el mayor nivel de estradiol se produce al momento que el folículo dominante alcancé su máximo tamaño; en el caso de alpacas se produce a los 8 días de la emergencia folicular (Vaughan, 2001).

El desarrollo del cuerpo lúteo no afecta la cantidad de folículos que se encuentre en desarrollo (Del Campo *et al.*, 1996), pero si repercutiría en el diámetro del folículo dominante, tal

como lo reporta un investigación donde el folículo presenta un menor diámetro en hembras gestantes (9.7mm), que en no gestantes (11.5 mm) (Adams, 2001). De la misma manera la lactación parece tener efecto sobre el diámetro del folículo dominante, pues en llamas no lactantes el diámetro (12mm) es mayor que en lactantes (10 mm) (Bravo, 1997); siendo probable que las concentraciones elevadas de prolactina tengan algún efecto sobre el diámetro folicular (Adams *et al.*, 1990).

La regresión folicular comienza cuando disminuye en tamaño el folículo dominante, llegando hasta los 3mm de diámetro (Bravo *et al.*, 1990a); aparentemente el folículo dominante controla su duración dentro de la onda folicular (Adams, 2001), porque cuando no ocurre la ovulación se produce la atresia del folículo (Bravo *et al.*, 1990a).

Vaughan *et al* (2001) refieren que un nuevo folículo en crecimiento se reconoce a los 2 - 3 días, luego de que inicie la reducción del diámetro folicular. Por otro lado, Adams *et al* (1990) manifiestan que los folículos dominantes de diferentes ondas pueden superponerse en los estadios de regresión y un nuevo crecimiento por un periodo de 1 a 4 días.

Bravo y Sumar (1989) han descrito en camélidos sudamericanos el desarrollo de ondas foliculares, vinculados con periodos de crecimiento, maduración y atresia del folículo dominante. En este sentido, el desarrollo folicular es dividido en tres fases o estadios: crecimiento (incremento del tamaño folicular), maduración o estática (cambios mínimos en el tamaño) y regresión (disminución del tamaño) (Bravo *et al.*, 1990a; Novoa, 1991; Stevenson, 2007).

Bravo y Sumar (1989) determinaron en alpacas la actividad folicular ovárica mediante la técnica de laparoscopia. El estadio de crecimiento fue de 4 días (3-5 días), el estadio de estática tuvo un tiempo promedio de 4 días (2- 8 días); y el estadio de regresión se mantuvo por 4 días (3-5 días).

Vaughan *et al* (2004) reportan intervalos de onda en promedio 15.4 ± 0.5 días en alpacas de entre el total de las ondas foliculares anovulatorios. El intervalo entre onda tenía una distribución de 15/38 (39%) ondas foliculares que mostró un intervalo de 12 días y 12/38 (32%) ondas foliculares con un intervalo de 16 días. También hubo cinco ondas con un intervalo de 18 días, 4 ondas con un intervalo de 20 días y 2 ondas con un intervalo de 22 días.

En llamas mediante ultrasonografía se ha establecido que una onda folicular dura aproximadamente 13.8 días, el estadio de crecimiento desde folículos de 3 mm hasta 12mm dura en promedio 4.8 ± 1.5 días; el estadio de estática con folículos de 8mm hasta 12mm dura aprox. de 5 ± 1.6 días y el estadio de regresión dura en promedio 4.0 ± 1.1 días (Bravo *et al.*, 1990a).

En alpacas, se ha reportado una tasa de crecimiento folicular de 0,4 mm/día (Vaughan *et al.*, 2004). Chaves *et al* (2002) reportaron una tasa de 0,9 mm/día en llamas.

Cuadro 1. Comparación de los estadios de la onda folicular, intervalo interonda y características del folículo dominante establecidos en camélidos sudamericanos

	Especies			
	Alpaca	Llama	Vicuña	Guanaco
	Bravo y Sumar, 1989	“Adams <i>et al.</i> , 1990” (1) Bravo <i>et al.</i> , 1990a (2) “Chaves <i>et al.</i> , 2002” (3)	Miragaya <i>et al.</i> , 2004	Rivero <i>et al.</i> , 2010
Estadios foliculares (días)				
Estadio de crecimiento	4 (3a5)	4.8 ± 1.5 (2) 9.2 ± 2.8 (3)	3.03 ± 0.18	3.03 ± 0.18
Estadio de estática	4 (2a8)	5.0 ± 1.6 (2) 5.2 ± 1.4 (3)	1.40 ± 0.21	1.40 ± 0.21
Estadio de regresión	4 (3a5)	4.0 ± 1.1 (2) 8.2 ± 2.2 (3)	2.87 ± 0.28	2.87 ± 0.28
Onda folicular	12	20-25 (1) 13.8 (2) 22.6 ± 2.5 (3)	7.25 ± 0.46	7.25 ± 0.46
Intervalo interonda	-	20.9 ± 1.6 (1) 18.0 ± 2.6 (3)	4.22 ± 0.29	4.22 ± 0.29
Características del folículo dominante				
Tasa de crecimiento (mm / día)	-	0,5-0,8 (1) 0.7 (2) 0,9 (3)	1,8	1.0 ± 0.3
Tamaño folicular máximo (mm)	-	10.0 ± 2.0 (2)	8.4 ± 0.3	10.2 ± 2.1

2.4.6 Ovulación

En la alpaca, el hipotálamo no responde a las concentraciones de estradiol producida por el crecimiento folicular. En esta especie son necesarias las señales neurales asociadas a la actividad de apareamiento para provocar la máxima secreción de GnRH y por consiguiente el pico preovulatorio de LH que será responsable de la ovulación (Bravo *et al.*, 1990b).

Novoa y Leyva (1996) establecen que la cópula es necesaria para que se produzca la ovulación, y a diferencia de otras especies el incremento de los niveles de estrógenos no originan el pico preovulatorio de LH. En relación, se evaluaron la respuesta de diversos estímulos de apareamiento sobre la inducción de la ovulación en la alpaca, demostrando que la cópula con machos vasectomizados o enteros provocan una ovulación en mayor proporción (80%) en comparación en los que se produce la monta sin penetración (15%), lo que indica que la monta y la penetración son necesarios para proporcionar un estímulo adecuado para la liberación de LH (Fernández-Baca *et al.*, 1970).

El primer incremento de los niveles LH en sangre ocurren aproximadamente 15 minutos luego del inicio de la cópula (Bravo *et al.*, 1992). Los valores máximos del pico de LH (3-8 ng/ml) se registran a las 2 a 3 horas después de producida la cópula, regresando a valores basales (0.96 ng/ml) luego de 7 a 12 horas (Bravo *et al.*, 1990a; 1992; Aba, 1998).

La ovulación ocurre entre las 26 a 30 horas luego del apareamiento (Adams *et al.*, 1990) o puede producirse a las 24 horas después del tratamiento con gonadotropina coriónica humana (hCG) (500-700 UI), GnRH (4-8 ug) o LH (1 mg) (Fernández-Baca *et al.*, 1970; Sumar, 1993a; Huanca *et al.*, 2001)

En camélidos sudamericanos el tiempo del apareamiento es variable (Sumar, 1997a). Vivanco *et al* (1985) sostienen que periodos mas prolongados de cópula producen un porcentaje más alto de ovulación en alpacas.

Se ha evidenciado fallas en la ovulación después de la cópula, debido a una menor sensibilidad de los folículos a la LH producto de las diferentes fases de crecimiento y maduración de los folículos (Novoa, 1989). En relación, se ha descrito que los folículos de menor tamaño (4 a 6 mm) secretan menores niveles de LH (29.1 ng/ml/6h) en comparación con los folículos de mayor

tamaño (7-12 mm) en fase de crecimiento, estática y regresión (62.4, 55.1, 63,7 ng/ml/h respectivamente). Así mismo, la ovulación no se presenta en folículos < 7mm de tamaño al momento de la cópula (Bravo *et al.*, 1991), debido a que la mayor expresión de los receptores de LH se produce en estados más avanzados del desarrollo folicular ovárico (Gore-Langton y Armstrong, 1994). Bravo *et al* (1991) considera la existencia de una relación estrecha entre el diámetro folicular y la secreción de LH.

La capacidad ovulatoria no esta necesariamente relacionada con la fertilidad del ovocito contenido dentro del folículo ovulatorio. Es probable que los folículos en crecimiento y los de fase estática temprana contengan ovocitos con mayor probabilidad de ser fecundados con éxito (Ratto *et al.*, 2003).

La ovulación se puede producir en ambos ovarios con similar frecuencia (Bravo *et al.*, 1993). Si bien es cierto, las gestaciones en su mayoría se generan en el cuerno izquierdo, aún no existe evidencias si la procedencia del ovocito del ovario izquierdo determina una mayor éxito en la gestación (Vaughan *et al*, 2003).

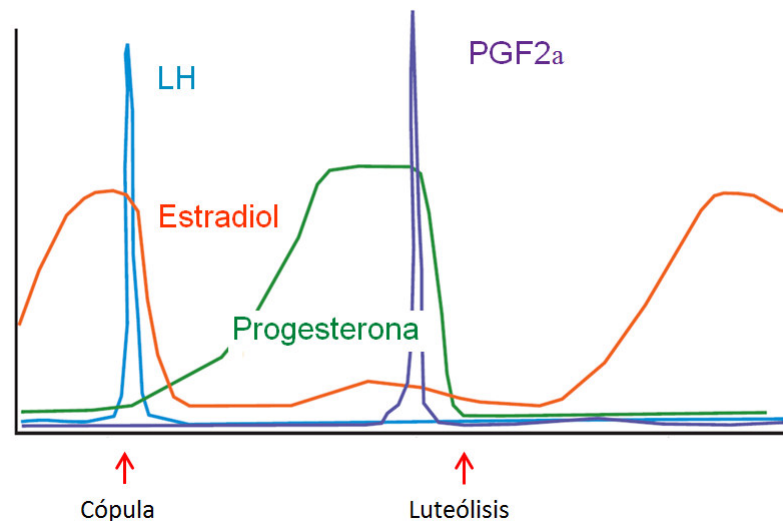


Figura 4. Esquema de eventos endocrinológicos después de la cópula

El estradiol disminuye después de la cópula. La hormona luteinizante alcanza su punto máximo unas pocas horas después de la cópula e induce la ovulación. El cuerpo lúteo alcanza su madurez a los 8 días. La luteólisis ocurre al día 9 a 10 post cópula, dando inicio a una nueva onda folicular Modificado de Aba (2014).

2.5 Importancia y composición del fluido folicular

El estudio de la composición del fluido folicular es de gran importancia en reproducción asistida por las diversas funciones que desempeña. La composición bioquímica del fluido folicular esta influenciada por el estado de maduración del folículo y recíprocamente dicha composición predice el éxito de la subsecuente maduración folicular y la gestación (Duran *et al.*, 1997).

El fluido folicular proporciona el microambiente dentro del cual el ovocito madura. Se deriva principalmente del plasma a través del compartimiento vascular en la pared del folículo. Sin embargo, también contiene factores producidos localmente por las células del folículo, cuya producción varía durante diferentes estados reproductivos. Su composición es al menos tan compleja como la del suero, dinámica en el sentido de que su composición es única para cada folículo y depende de su estado metabólico. Proporciona un entorno favorable para el crecimiento y la diferenciación de las células foliculares, así como para el núcleo y la maduración citoplásmica de los ovocitos. También interviene en el momento de la ovulación, favoreciendo el paso del ovocito en el oviducto, y en el momento de la fecundación, atrayendo a los espermatozoides al lugar de la fertilización, y estimulando la reacción acrosomal (Fahiminiya y Gérard, 2010).

2.5.1 Formación y desarrollo del antro folicular

Los folículos no poseen una gran cantidad de líquido extracelular desde el comienzo de su desarrollo. El folículo primordial consiste en un ovocito relativamente pequeño rodeado por una sola capa de células escamosas, cuando el folículo primordial abandona la reserva ovárica se convierte en un folículo primario, el cual cuenta con una capa externa de células de pregranulosa que empiezan a convertirse en células cuboidales de granulosa; estas células se multiplican y se organizan en varias capas alrededor del ovocito para formar el folículo secundario, en donde la granulosa empieza a secretar el fluido folicular que conforme aumente formará espacios entre ellas. En los folículos terciarios o de Graff, estos espacios de fluido irán confluyendo para formar el antro folicular. Por otra parte se produce la reorganización y diferenciación del estroma, el cual rodea al folículo formando las tecas foliculares externa e interna; esta última se vasculariza (angiogénesis) y permite el acceso de diversos componentes hacia el folículo en crecimiento (Gosden *et al.*, 1988).

Para varias especies de mamíferos estudiados, el antro se forma cuando el folículo alcanza un diámetro de 0.2 mm. Por el contrario, la duración del desarrollo del antro folicular, el tamaño máximo del antro y el volumen del líquido folicular varían según la especie (Monniaux *et al.*, 2009).

2.5.2 Origen del fluido folicular

El fluido folicular se origina a partir del suero y también está compuesto parcialmente de sustancias producidas localmente relacionadas con la actividad metabólica de las células foliculares (Tabatabaei *et al.*, 2011), ya que es poco probable que las proteínas plasmáticas encontradas en el fluido folicular sean sintetizadas *in situ*; por otro lado, las altas concentraciones de esteroides y de mucopolisacáridos casi con certeza reflejan la actividad de síntesis de las células foliculares (Edwards, 1974)

Otros estudios postulan tres fases de formación del fluido folicular. El origen del fluido primario sería intracelular, mientras que el fluido secundario se ha atribuido a la trasudación de los capilares tecaes. El fluido terciario se produce en el folículo colapsado posterior a la ovulación (Gosden *et al.*, 1988).

La secreción inicial observada entre las capas de células de la granulosa, y la posterior llegada de agua, electrolitos y moles del plasma sanguíneo se acumulan como resultado de un gradiente osmótico. Los glicosaminoglicanos, el hialuronano, la condroitina y el sulfato de dermatano, y sus moléculas asociadas serían responsables del gradiente osmótico requerido para la formación y crecimiento del antro (Clarke *et al.*, 2006)

2.5.3 Aspectos cuantitativos de la formación de fluido folicular

El tamaño del folículo maduro de Graaf está genéticamente determinado y tiene importancia fisiológica. El volumen del antro influirá en la concentración de hormonas y metabolitos en el fluido extracelular, y en consecuencia, sus acciones biológicas. La formación del antro requiere las acciones combinadas de FSH y estrógeno (Goldenberg *et al.*, 1972), y se prevé que los cambios de volumen también estarán regulados por el polipéptido y las hormonas esteroideas. En este sentido, puede ser significativo que las concentraciones de estrógeno y andrógeno en el antro sean muy diferentes en los folículos que se expanden en comparación con los que se reducen (atrésicos) (McNatty *et al.*, 1979).

2.5.4 La barrera hemato-folicular

In vivo, el fluido folicular está separado de la circulación sanguínea por la barrera hemato-folicular, la cual se encuentra formada por dos capas de células (granulosa y teca) y una membrana basal que las separa. La teca interna se encuentra fuera de la membrana basal, y a diferencia de la granulosa, esta vascularizada. La integridad del folículo completamente desarrollado está indudablemente determinada por las propiedades de estas tres capas, aunque durante las primeras etapas de crecimiento la capa de granulosa es muy pequeña, y la teca se desarrolla a medida que los folículos se expanden (Edwards, 1974).

La superficie epitelial que mira hacia el antro es uniforme y carece de canales o procesos conspicuos. La morfología del epitelio folicular sugiere una estructura que es altamente permeable al agua y a las sustancias disueltas. (Gosden *et al.*, 1983).

La barrera hemato-folicular es permeable y permite el rápido paso de aminoácidos o ciertas proteínas de la circulación al antro (McNatty, 1978). Por otro lado, el paso de ciertos componentes de mayor peso molecular (> 100 kDa) está mucho más regulado (Clarke *et al.*, 2006)

Las actividades y propiedades metabólicas de la barrera del folículo sanguíneo cambian significativamente durante la maduración del folículo (Gosden *et al.*, 1988).

2.5.5 Características bioquímicas del fluido folicular

Entre los componentes del fluido folicular se encuentran esteroides y glicoproteínas, que son sintetizados por células foliculares dominantes, y son parte de los constituyentes específicos del fluido folicular, así como otros factores o sustancias que son sintetizados por células somáticas ováricas; estos compuestos contribuyen al metabolismo de las células y del ovocito folicular (Gérard *et al.*, 2002; Nandi *et al.*, 2007).

Investigaciones sobre su composición bioquímica han determinado que las concentraciones de carbohidratos, esteroides, proteínas, y mucopolisacáridos sufren cambios a medida que crece el folículo (Gibory y Millar, 1982; Illera, 1994). Los cambios en los componentes bioquímicos del fluido folicular pueden influir en la maduración y la calidad del ovocito (Leroy *et al.*, 2004; Gode *et al.*, 2011).

La glucosa juega un rol importante en el metabolismo ovárico, siendo considerado la principal fuente de energía para el ovario; se origina a partir de la glucólisis dentro de las células de granulosa mural (Leese y Lenton, 1990, Collins *et al.*, 1997) y por la afluencia de algunas moléculas del plasma sanguíneo a los folículos (Leese y Lenton, 1990).

La concentración de proteína total en todas las clases de folículos solo representan el 75 al 80% de lo que puede encontrarse en el suero sanguíneo (Wise, 1987). Se especula que la función de tamizado de la barrera del folículo sanguíneo impide la diseminación de las proteínas del plasma, volviéndose más efectiva con el crecimiento de los folículos.

Se ha demostrado que el fluido folicular favorece la reacción acrosómica y la capacitación de los espermatozoides (Bravo y Valdivia, 2018), en este sentido la albúmina es considerada el principal factor inductor de la capacitación espermática, debido a que induce la liberación de colesterol de la membrana plasmática para estimular dicha capacitación y posteriormente la reacción acrosomal (Visconti *et al.*, 1995). La albúmina también sería necesaria para desarrollo de una presión coloidal que podría contribuir a la alta viscosidad del fluido folicular (Rahman *et al.*, 2008)

El colesterol sérico podría no ser el principal compuesto metabólico para la esteroidogénesis en los folículos ováricos, basándose en que las células de granulosa poseen abundante reserva de ésteres de colesterol que pueden brindar colesterol libre para la progesterona preovulatoria o la esteroidogénesis general (Endresen *et al.*, 1990)

La composición bioquímica de los folículos dominantes son un indicador del estadio de desarrollo y la calidad del ovocito, puesto que brinda información sobre los requerimientos celulares (Gérard *et al.*, 2002). El estado y composición bioquímica del fluido folicular son importantes para determinar el estado de maduración del ovocito; su calidad y su posterior potencial para lograr la fertilización y desarrollo embrionario. Estos factores nos permitirían predecir el éxito de la fertilización y la probabilidad de una gestación a término (Duran *et al.*, 1997; Fahiminiya y Gérard, 2010).

2.5.6 Funciones del fluido folicular

Maduración y calidad de los ovocitos

En la mayoría de las especies estudiadas, los ovocitos maduros in vitro muestran una baja capacidad de desarrollo en comparación con los ovocitos maduros in vivo; en este sentido, el fluido folicular jugaría un papel esencial en la calidad del ovocito. El estado fisiológico de los folículos responsables del fluido folicular utilizado en estudios de maduración in vitro sería un factor importante (Sutton *et al.*, 2003).

La calidad del ovocito ciertamente no está correlacionada con una sola molécula, sino más bien con un equilibrio preciso de varios componentes del fluido folicular (Fahiminiya y Gérard, 2010).

Efectos sobre los espermatozoides y la fertilización

El fluido folicular es capaz de aumentar la motilidad de los espermatozoides in vitro, así mismo estimula la capacitación y reacción acrosómica de los espermatozoides (Hong *et al.*, 1993). El líquido folicular favorecería la llegada de los espermatozoides al lugar de la fertilización; la presencia de agentes quimiotácticos se ha demostrado en el líquido folicular de varias especies (Eisenbach, 1999).

Efectos sobre el desarrollo embrionario

El fluido folicular protege al ovocito contra la proteólisis y la extrusión durante la ovulación, proporcionando un microentorno apropiado que favorece el desarrollo embrionario adecuado; por lo que juega un papel clave en la calidad del embrión (McNatty, 1978, Guerreiro *et al.*, 2018).

2.6 Técnicas de asistencia reproductiva

2.6.1 Ultrasonografía

Aplicaciones de la ultrasonografía en la reproducción

La ultrasonografía ha permitido descubrimientos importantes para la reproducción animal, posibilitando una mayor comprensión de los eventos que ocurren durante el ciclo ovárico. En este sentido ha mejorando la eficiencia reproductiva en diferentes animales domésticos, mediante el estudio de la estructura y función de los ovarios (Bravo *et al.*, 1993), el reconocimiento temprano de la gestación, entre otros (Buckrell *et al.*, 1986).

La eficiencia de los trabajos con ultrasonografía depende básicamente de la observación completa de los folículos en desarrollo, la determinación del diámetro folicular y la ubicación anatómica de los ovarios (González-Bulnes *et al.* 1994)

Ultrasonografía en camélidos sudamericanos

Al contrario de la laparotomía exploratoria o la laparoscopia, es considerada una técnica de diagnóstico no invasiva. En camélidos sudamericanos viene siendo empleada desde hace muchos años, no evidenciando efectos perjudiciales y siendo muy bien tolerado (Bourke *et al.*, 1992).

El empleo de ultrasonografía transrectal en camélidos sudamericanos es mediante un transductor lineal con una sonda convexa en una frecuencia entre 5 a 7.5 MHz. Dicha frecuencia garantiza una imagen clara y bien definida con suficiente penetración en profundidad para examinar la totalidad del tracto reproductivo (Parraguez *et al.*, 2010)

Los principales usos de esta técnica en camélidos sudamericanos son la evaluación del tracto reproductivo, diagnóstico de preñez y estimación de la edad del feto. En la actualidad esta técnica tiene usos más específicos como la evaluación de la dinámica folicular, la detección de la ovulación, la evaluación de los tratamientos de superovulación y la aspiración folicular transvaginal (Parraguez *et al.*, 2010).

Mediante ultrasonografía transrectal los folículos ≥ 4 mm se muestran como estructuras redondas y anecoicas (negras), (Sumar, 1989) distribuidos a la periferia del ovario; por otra parte el

estroma del ovario se observa ecogénico y de manera más brillante que las demás estructuras ováricas (Adams *et al.*, 1989).

La introducción de la ecografía de exploración para la reproducción ha demostrado que mejora la preñez en una tasa de 50-60% hasta un 85-90% en los rebaños de camélidos ubicados en su lugar de origen, el Altiplano Andino (Parraguez *et al.*, 2010).

2.6.2 Sincronización hormonal de la onda folicular

En los camélidos sudamericanos la cópula provocará una descarga de LH que permite desencadenar el proceso de ovulación. Cuando no exista un estímulo que desencadene el la fase ovulatoria, se producirán oleadas continuas de crecimiento, maduración y atresia folicular (Vaughan y Tibary, 2006).

El proceso de sincronización de la emergencia de una nueva onda folicular será producto de sincronizar el desarrollo folicular ovárico (Martínez, *et al* 2000), que puede ser controlado por tratamientos hormonales o mecánicamente por ablación folicular guiada por ultrasonido. En camélidos se han empleado tratamientos mediante GnRH y LH con el objetivo de inducir la ovulación y estimular el desarrollo folicular ovárico (Bravo *et al*, 1992; Ratto *et al.*, 2006).

El acetato de buserelina (análogo de GnRH) se ha utilizado en llamas para producir la sincronización de la onda folicular en diferentes fases del desarrollo ovárico (Ferrer *et al*, 2002). Se ha demostrado en alpacas que luego de la aplicación de 1ml de Acetato de buserelina por vía intramuscular, el intervalo hasta la tasa de emergencia fue de 4.3 ± 1.4 días (Vaughan y Tibary, 2006).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de estudio

Las actividades del estudio para la obtención de las muestras del fluido folicular, se realizaron durante los meses de febrero y abril del año 2016 en el CIP-Chuquibambilla de la Universidad Nacional del Altiplano; localizado a 3974 msnm, en la provincia de Melgar, región de Puno. Durante el desarrollo del presente estudio se registró una temperatura promedio de 9.5° C, así mismo, una temperatura mínima de 2,3 °C y máxima de 16,7°C.

El análisis bioquímico de las muestras se realizó en el Laboratorio de Fisiología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos en Lima.

3.2 Animales

Se emplearon 27 alpacas hembras adultas de 4 a 7 años de edad, vacías, de variedad suri, sin cría al pie con antecedentes reproductivos de haber tenido al menos un parto. Los animales fueron evaluados mediante ultrasonografía transrectal para comprobar la presencia de un folículo dominante pre ovulatorio ($\geq 7\text{mm}$) y la ausencia de problemas reproductivos (quistes foliculares, endometritis). Todas las alpacas seleccionadas se mantuvieron en un corral en específico, separadas de contacto con los machos; así mismo recibieron las mismas condiciones de manejo y fueron alimentadas a base de pasturas naturales.

3.3 Procedimiento Metodológico

3.3.1 Pre - Evaluación ecográfica

27 alpacas hembras fueron seleccionadas mediante la observación de un folículo ≥ 7 mm de tamaño, a través de un ecógrafo ALOKA SSD 500 equipado con un transductor lineal de 7.5 MHz. Se descartaron los animales con dimensiones estrechas de recto, debido a que no permitiría manipular el útero con facilidad para la evaluación ecográfica.

3.3.2 Sincronización de la onda folicular

Se sincronizo la onda folicular de todas las alpacas en estudio mediante la administración de 1ml de un análogo de GnRH (0.0042 mg de acetato de buserelina) por vía intramuscular con el objetivo de uniformizar en crecimiento folicular. Transcurrida 48 horas de la sincronización, se verifica la ovulación mediante la desaparición del folículo dominante, visto por ecografía; seguidamente se producirá la emergencia de una nueva onda folicular sincronizada y la posterior formación del folículo dominante.

3.3.3 Identificación de grupos

Se realizó evaluaciones ecográficas interdiarias para identificar el estadio de desarrollo folicular del folículo dominante (crecimiento, estática o regresión). Según el estadio de desarrollo las alpacas se asignaron en los siguientes grupos:

G1 (n=9): Animales con folículos en estadio de crecimiento ≥ 7 mm y que se observe un incremento de tamaño en 2 observaciones.

G2 (n=9): Animales con folículos en estadio estática ≥ 7 mm y que se mantenga sin variación al menos en 2 observaciones.

G3 (n=9): Animales con folículos en estadio de regresión ≥ 7 mm y que se observe disminución de tamaño en 2 observaciones.

Cuadro 2. Identificación de grupos

Grupos	Estadio	Nº de animales
G1	Crecimiento	9
G2	Estática	9
G3	Regresión	9

Los datos de las evaluaciones ecográficas fueron registrados en fichas ecográficas para seguir la dinámica folicular y poder identificar el estadio (Apéndice 5).

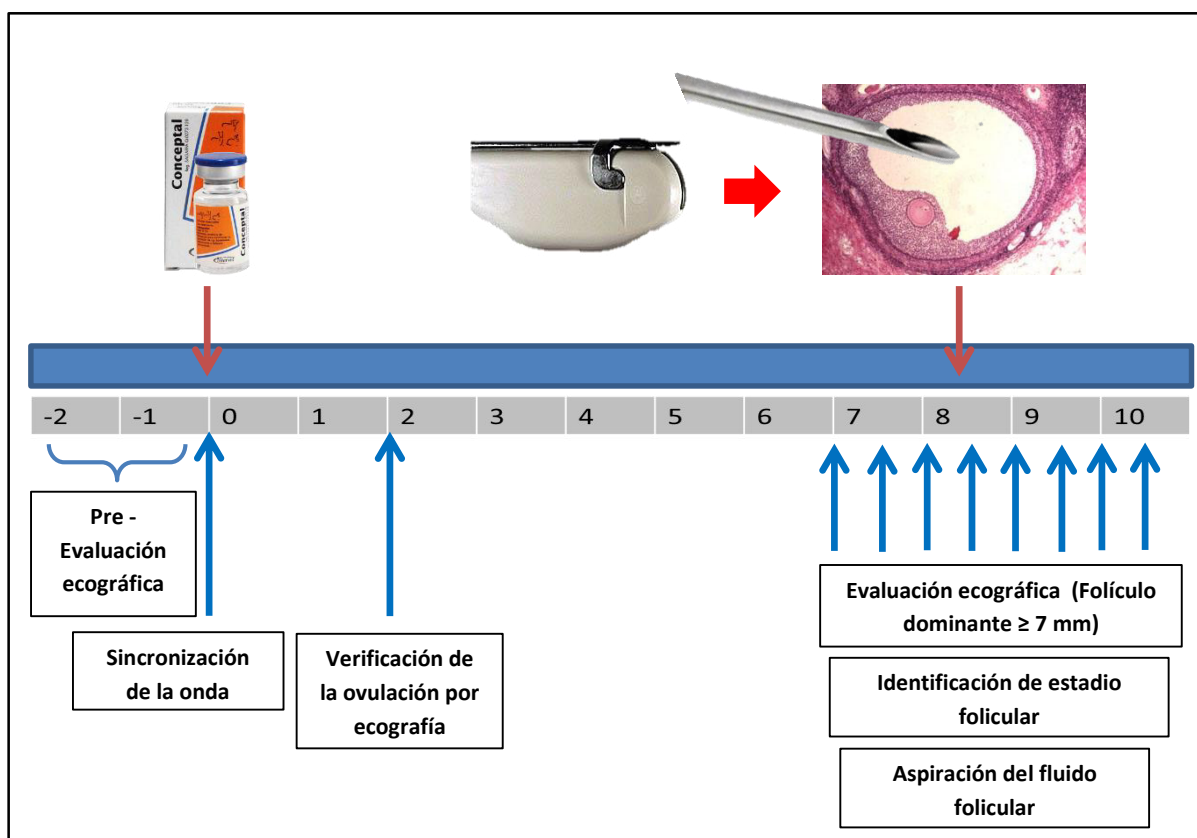


Figura 5. Diseño del estudio

3.3.4 Aspiración del fluido folicular

Una vez identificado el estadio del desarrollo folicular se procedió a realizar la aspiración del fluido folicular. Para lo cual se realizó el siguiente protocolo: en primer lugar, se administró 3ml de lidocaína al 2% por vía epidural para reducir las ondas peristálticas y relajar el útero, de modo que facilite la manipulación del ovario. Luego se procedió a la limpieza y desinfección de la vulva y el perineo. Terminada la limpieza del área, se procede a aspirar el fluido folicular con una aguja N° 19, acoplada en un transductor transvaginal de 5.0 MHz, y un ecógrafo ALOKA SSD500 que permite observar el ovario y el folículo dominante.

El procedimiento consiste en ubicar el transductor en el fondo de la vagina para luego proceder a introducir la otra mano por el recto y fijar el ovario contra la punta del transductor (donde se encuentra ubicada la aguja), permitiendo visualizar tanto el ovario como el folículo dominante en la pantalla del equipo de ultrasonografía. A su vez nos permite apreciar la trayectoria de la aguja para lograr una aspiración exitosa.

Inmediatamente ubicado el folículo dominante a aspirar, se impulsa la aguja suavemente para que penetre la pared vaginal y luego la folicular; aspirando el contenido folicular que es recolectado en un tubo Falcón de 15 ml, el cual se mantuvo a una temperatura de 37°C en baño maría. Es importante señalar que para realizar la aspiración del fluido folicular se utilizó un medio compuesto 10 000 UI/L de heparina y 50 µg/L de gentamicina. La aspiración se realizó con un sistema previamente cargado con este medio; a su vez terminada la aspiración se realizó un lavado exhaustivo del contenido folicular en la aguja y en el sistema de recolección con el mismo medio.

Finalizada la recolección se procedió a centrifugar el contenido folicular a 3000 rpm por 20 min para separar los contenidos celulares. El sobrenadante fue colocado en viales de 2ml identificados y rotulados. Seguidamente fueron sumergidos en nitrógeno líquido para su almacenamiento y estudio de su composición bioquímica con un equipo analizador en la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Los datos fueron registrados en fichas para su posterior análisis (Apéndice 6)

3.3.5 Análisis bioquímico

Las muestras fueron descongeladas para proceder al análisis bioquímico, determinándose los niveles de glucosa, proteína, albumina, triglicéridos y colesterol, a través de kits comerciales (FAR Diagnostics, Italia) específicos para cada uno de ellos, siguiendo las especificaciones del fabricante. Para ello se utilizó un analizador bioquímico semiautomático (SINOWA, China), el cual necesitó un periodo de estabilización de 10 a 15 min desde el encendido; así mismo, se estabilizó la temperatura a 37°C mediante baño maría.

Se analizaron 10 muestras de fluido folicular por día mediante el uso de tubos de ensayo de 3ml para cada muestra. El procedimiento consistió en depositar 500µL del reactivo 1 y 5µL de muestra de fluido folicular en un tubo de ensayo, posteriormente fueron colocados en baño maría por un periodo de 5 minutos; finalmente el analizador bioquímico aspira el contenido y se realiza la lectura de los resultados.

3.3.6 Análisis estadístico

El análisis de los datos obtenidos se realizó mediante el programa estadístico SPSS 25. Así mismo se verificó que los valores presenten una distribución normal; posteriormente se realizó el análisis de varianza (ANOVA) para comparar las medias de los diferentes estadios (G1, G2, G3) por cada componente bioquímico.

El tipo de ANOVA utilizado fue el de un solo factor, cuya notación es la siguiente:

$$X_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

“Donde X_{ij} es la variable respuesta para la j -ésima observación en el i -ésimo tratamiento, μ es la media general de la población, α_i es el i -ésimo efecto del tratamiento, que es la diferencia entre la media del i -ésimo tratamiento y la media general de la población, y ϵ_{ij} es el error experimental” (Navidi, 2006).

Los resultados en donde se encontró diferencia significativa fueron evaluados mediante la prueba de Tukey, con la finalidad de conocer entre que grupos específicamente se encuentra la diferencia. Considerado una significancia de $p < 0.05$

IV. RESULTADOS

4.1 Diámetro del folículo al momento de la aspiración:

El diámetro del folículo al momento de la aspiración fue semejante para los tres estadios de desarrollo folicular. No hubo diferencia significativa al realizar la comparación de medias (Cuadro 3)

Cuadro 3. Diámetro folicular al momento de la aspiración del fluido folicular según el estadio de desarrollo folicular

Estadio	N	Media (mm)	Mínimo (mm)	Máximo (mm)
G1	9	8.63 ± 1.38	7	11
G2	9	8.98 ± 1.44	7.6	12
G3	9	8.22 ± 1.06	7	10

E1: estadio de crecimiento; E2: estadio de estática; E3: estadio de regresión; N: Número de hembras

4.2. Tasa de recuperación del fluido folicular

Mediante la técnica de recuperación de fluido folicular ovárico, vía transvaginal, se logró obtener 28 muestras, de un total de 39 alpacas que presentaban un folículo dominante (≥ 0.07 mm). De las 28 muestras (E1=9; E2=10; E3=9), se descartó una muestra que resultó contaminada con sangre al momento de la aspiración, la cual pertenecía al grupo de estadio de estática (Cuadro 4).

Cuadro 4. Tasa de recuperación del fluido folicular ovárico

Aspiración	Número de alpacas	Tasa de aspiración
Fluido folicular recuperado	28	71.80%
Fluido folicular no recuperado	11	28.20%
Total de animales viables a la técnica	39	100%

4.3. Valores bioquímicos del fluido folicular de glucosa, proteínas totales, albúmina, colesterol y triglicéridos según su estadio de desarrollo folicular ovárico.

Los resultados hallados después de realizar las determinaciones de cada componente bioquímico mediante un analizador semiautomático (SINOWA, China) y kits comerciales específicos (FAR Diagnostics, Italia), se pueden observar en el siguiente cuadro (Cuadro 5).

Cuadro 5. Niveles de glucosa, proteína, albúmina, colesterol y triglicéridos en el fluido folicular según estadio de desarrollo folicular

Componente bioquímico	Estadios		
	Crecimiento n=9	Estática n=9	Regresión n=9
Glucosa (mg/dl)	37.04 ± 8.58 ^{a,b}	41.19 ± 9.99 ^a	30.07 ± 7.85 ^b
Proteína (g/dl)	1.65 ± 0.63	1.93 ± 0.85	1.79 ± 0.97
Albumina (g/dl)	1.14 ± 0.36	1.42 ± 0.48	1.31 ± 0.57
Colesterol (mg/dl)	15.82 ± 7.7	18.3 ± 7.43	11.08 ± 5.25
Triglicéridos (mg/dl)	11.3 ± 5.12	12.35 ± 5.84	10.78 ± 4.27

Las concentraciones de proteína total, albúmina, colesterol y triglicéridos no difirieron significativamente entre los estadios de desarrollo folicular.

Los resultados en el cuadro 5 y la figura 6, muestran que la concentración de glucosa fue significativamente diferente ($p \leq 0.05$) entre el estadio de estática y regresión, siendo menor el valor en regresión

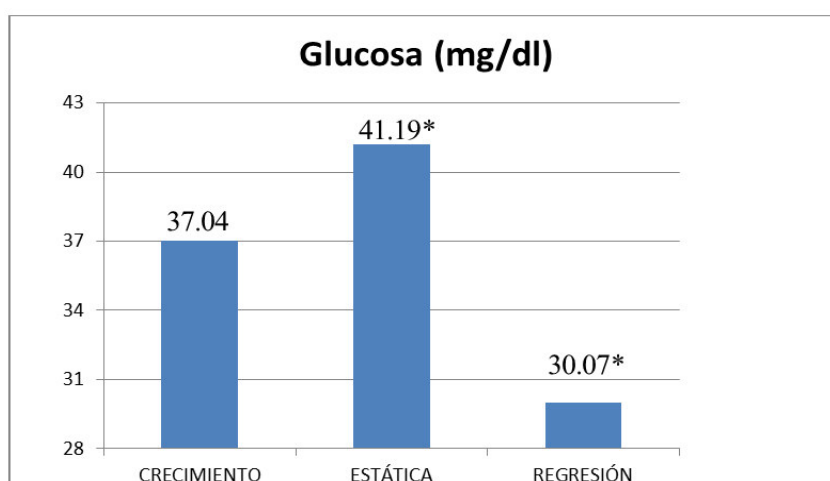


Figura 6. Valores de glucosa folicular en estadio de crecimiento, estática y regresión

V. DISCUSIÓN

El fluido folicular contiene diferentes componentes bioquímicos provenientes del suero o de la producción local en los folículos, que se relacionan con la actividad metabólica de las células foliculares (Gérard *et al.*, 2002) y que cambian junto a la estructura de la pared folicular durante el crecimiento del folículo (Brantmeier *et al.*, 1987). En este sentido, la composición bioquímica del fluido folicular puede diferir según el estadio de desarrollo folicular.

Los metabolitos bioquímicos del fluido folicular son esenciales para la maduración e incluso la fertilización del ovocito; por lo que cambios en los metabolitos pueden afectar el crecimiento y la calidad del ovocito (Leroy *et al.*, 2004; Gode *et al.*, 2011). El presente estudio representa la primera investigación de componentes bioquímicos (glucosa, proteína total, albúmina, colesterol y triglicéridos) del fluido folicular en alpacas, según el estadio de desarrollo folicular.

Glucosa

La glucosa cumple un rol fundamental en el metabolismo ovárico como fuente de energía. Los niveles de glucosa encontrados en los estadios de crecimiento, estática y regresión son 37.04, 41.19 y 30.07 mg/dl, respectivamente, presentando diferencia significativa entre el estadio de estática y regresión, siendo menor el valor en regresión; lo que podría sugerir un agotamiento de los contenidos de glucosa en este estadio y la existencia de cambios en el contenido de glucosa folicular según el estadio de desarrollo folicular

Los resultados actuales podrían explicarse teniendo en cuenta el tiempo del periodo de crecimiento y estática indicado por Bravo *et al* (1990a) de $4,8 \pm 1,5$ días y $5 \pm 1,6$ días, respectivamente; siendo 10-11 días en promedio para cuando el folículo se encontrase en el estadio de regresión, lo que implicaría un tiempo suficiente para que los niveles de glucosa disminuyan debido al catabolismo local de los carbohidratos (Ali *et al.*, 2008). Este hallazgo coincide con lo reportado por Gérard *et al* (2002) en yeguas, donde los contenidos de glucosa tendieron a disminuir al pasar de la etapa dominante temprana (20-22 mm) a la etapa dominante tardía (30–32 mm); cabe precisar que el estudio en mención fue también realizado mediante punción folicular guiada por ecografía transvaginal.

La glucosa se origina a partir de la glucólisis dentro de las células de granulosa mural (Leese y Lenton, 1990, Collins *et al.*, 1997) y por la afluencia de algunas moléculas del plasma sanguíneo a los folículos (Leese y Lenton, 1990); por lo que una menor permeabilidad de la barrera folicular en el estadio de regresión podría disminuir la afluencia de glucosa a partir de plasma sanguíneo. Los cambios en la permeabilidad son factibles debido a que las propiedades metabólicas de la barrera del folículo cambian significativamente durante el crecimiento folicular (Gosden *et al.*, 1988).

Los valores obtenidos fueron inferiores a los encontrados en alpacas por Huanca *et al* (2017); 49.17, 47.95 mg/dl; aunque con un objetivo diferente y utilizando como inductor de ovulación al PS y GnRH, respectivamente. En esta misma especie, Coila *et al* (2011) reportaron valores superiores de glucosa de 45.8, 56.4 y 69.0 mg/dl; para folículos pequeños, medianos y grandes, respectivamente, sin embargo, utilizaron ovarios procedentes de animales sacrificados, por lo que no es factible determinar los respectivos estadios de desarrollo folicular.

En otras especies se ha observado un comportamiento similar de disminución en la concentración de glucosa en el fluido folicular pero relacionado al tamaño folicular, Ali *et al* (2008) manifestaron que en dromedarios el contenido de glucosa en el fluido folicular disminuye a medida que los folículos aumentan de 5-9 mm (136 ± 4.05 mg/dl) a 10-20 mm (77.09 ± 4.31 mg/dl), atribuyendo al efecto de dilución del agua, ya que comparativamente habría más fluido presente en los folículos grandes que en los pequeños. Por el contrario; en vacas lecheras se evidencio que la concentración de glucosa fue directamente proporcional al tamaño folicular (Leroy *et al.*, 2004).

Los niveles de glucosa folicular para los estadios en estudio fueron inferiores a los valores de glucosa sérica (81 ± 9.5 mg/dl) reportados en alpacas por Olazabal *et al* (2015). Así mismo, es importante señalar que no se observó en el presente estudio diferencia significativa entre el estadio de crecimiento y estática.

Se debe considerar que además del estadio del desarrollo folicular y el tamaño folicular, la dieta también puede influir en el contenido de glucosa del fluido folicular (Landoua *et al.*, 2000). El conocimiento de los mecanismos exactos implicados en la regulación de los contenidos de glucosa del fluido folicular en alpacas es muy escaso y aún siguen en investigación.

Proteína total

Los niveles de proteína encontrados en los estadios de crecimiento, estática y regresión son 1.65, 1.93 ,1.79 g/dl, respectivamente. Se evidencio un incremento en los niveles de proteína del estadio de crecimiento a estática., sin embargo, la diferencia no fue significativa, por lo que el contenido folicular de las proteínas totales no parece cambiar con el desarrollo folicular y se mantendría constante.

En relación, Vencato *et al* (2014) evaluaron en llamas el perfil electroforético de proteínas del fluido folicular en diferentes etapas del desarrollo del folículo (crecimiento, estática, regresión), encontrando un aumento en proteínas de 250 kDa al pasar de la fase de crecimiento a la fase de estática; lo que coincidiría con el comportamiento observado en el presente estudio, debido a que al ser proteínas de alto peso molecular afectaría del mismo modo la concentración total de proteínas en los estadios mencionados.

Los valores obtenidos son inferiores a los señalados en alpacas por Coila *et al* (2011); 5.03, 5.68, 7.25 g/dl; para folículos pequeños, medianos y grandes, respectivamente. De igual forma, los resultados difieren de lo valores (7.26 g/dl) reportados por Pacheco *et al* (2007), para folículos terciarios (>7mm) en esta misma especie. Cabe mencionar que el fluido folicular de los trabajos mencionados fue tomado de ovarios procedentes de camal, lo que afectaría la concentración real del metabolito en mención y explicaría las diferencias con el presente estudio.

Se ha evaluado al fluido folicular en otras especies, pero en relación a su tamaño folicular. En camellos, Ali *et al* (2008) encontraron niveles de proteína total de 5.97 y 6,14 g/dl para folículos

pequeños (5-9 mm) y grandes (10-20 mm), tampoco encontrando diferencias significativas. Hallazgos similares han sido reportados en vacas lecheras, Leroy *et al* (2004) indicaron que el contenido de la proteína total no difiere significativamente durante el crecimiento folicular.

Albúmina

Los niveles de albúmina encontrados en los estadios de crecimiento, estática y regresión son 1.14, 1.42, 1.31 g/dl, respectivamente, no presentando diferencia significativa entre los estadios, por lo que estadio de desarrollo folicular no tendría influencia sobre los niveles de albúmina.

El resultado en el estadio de crecimiento es similar a los valores informados en alpacas por Huanca *et al* (2017); 1.11, 1.13 g/dl; utilizando como inductor de ovulación al PS y GnRH, respectivamente; mientras que los valores obtenidos en el estadio de estática y crecimiento fueron superiores. La investigación en mención también fue realizada mediante aspiración transvaginal a partir de folículos mayores de 7mm, sin embargo, podrían haber estado en cualquiera de los estadios de desarrollo (crecimiento, estática, regresión) al momento de la aspiración.

Según lo sugiere Pacheco *et al* (2007), la albúmina se incrementa ligeramente en estadios preovulatorios puesto que cumpliría un rol fundamental en el desarrollo y preparación de los gametos, previo a la fecundación. Así mismo se ha demostrado que el fluido folicular estimularía tanto la motilidad espermática como la reacción acrosómica, considerando a la albúmina como uno de los principales factores en estos eventos (Bravo y Valdivia, 2018). Por lo que un menor valor de albúmina en un estadio de crecimiento prematuro podría deberse a su condición lejana a la ovulación en comparación con los otros estadios.

En esta misma especie, Pacheco *et al* (2007) reportó valores superiores de albúmina (5.29 g/dl) en relación a los resultados obtenidos en el presente estudio. El fluido también fue recuperado de folículos >7mm (folículos terciarios), pero de ovarios procedentes de camal, por lo que se podrían generar cambios en la composición regular in vivo de la albúmina.

Se evidencio que la albúmina constituye más de la mitad de la proteína total, lo cual también fue observado en otros estudios en camélidos sudamericanos (Vencato *et al.*, 2014; Huanca *et al.*, 2017).

Existen estudios en otras especies evaluando los niveles de albumina pero según su tamaño folicular. En camellos, El-Shahat *et al* (2013), encontraron niveles de albumina en el fluido folicular de 3, 3, 3.2 g/dl para folículos pequeños (1-3 mm) medianos (4-9 mm) y grandes (10-20 mm), tampoco encontrando diferencias significativas. Otro estudio en esta misma especie reveló valores de 4.87 y 3.51 g/dl, para folículos pequeños (2-6 mm) y grandes (7-20 mm), la menor concentración de albúmina en los folículos grandes se vinculo al aumento del fluido producto del crecimiento folicular lo cual tendría un efecto disolvente sobre este metabolito (Rahman *et al.*, 2008).

Colesterol

Los resultados de colesterol folicular encontrados en los estadios de crecimiento, estática y regresión son 15.82, 18.3, 11.86 mg/dl, respectivamente, evidenciando una marcada disminución de los niveles de colesterol al pasar del estadio de estática a regresión, sin embargo, la diferencia no fue significativa.

El colesterol es considerado el precursor de todas las hormonas esteroides, incluido el estrógeno y la progesterona en las hembras (Pineda, 1989), por lo tanto, el menor nivel de colesterol folicular en el estadio de regresión estaría asociado a la biotransformación de colesterol en esteroides sexuales (Rahman *et al.*, 2008); proceso que se acentuaría al aproximarse a la atresia folicular.

El colesterol folicular se origina a partir de las células de granulosa y del suero sanguíneo mediante la captación de lipoproteínas plasmáticas (Endresen *et al.*, 1990). En este sentido, Gérard *et al* (2002) observaron en yeguas, que el contenido de lipoproteínas disminuyo significativamente al pasar de la etapa dominante temprana (20-22 mm) a la etapa dominante tardía (30-32 mm); por lo explicaría en parte el comportamiento similar observado en el colesterol folicular.

Los resultados obtenidos son inferiores a los reportados en alpacas por Huanca *et a.* (2017); 39.01, 42.5 mg/dl; utilizando como inductor de ovulación al PS y GnRH, respectivamente. El método de colección empleado para folículos >7mm fue similar al presente estudio, de modo que los resultados probablemente difieren debido al agente inductor de ovulación; a su vez se debe

considerar que los folículos podrían haber estado cualquiera de los estadios de desarrollo (crecimiento, estática, regresión) al momento de la aspiración folicular.

Por otro lado, los resultados fueron superiores a los encontrados por Coila *et al* (2007); 3.96, 5.33 y 6,18 mg/dl, para folículos pequeños, medianos y grandes, respectivamente., las diferencias estarían asociadas al método de colección utilizado puesto que provenían de ovarios de camal.

En *camelus dromedarius*, Rahman *et al* (2008) encontraron que la concentración de colesterol es significativamente menor en los folículos grandes (1.62 mg/dl) en comparación con los folículos pequeños (3.6 mg/dl); la disminución del nivel de colesterol en los folículos grandes fue atribuido a la conversión del colesterol en hormonas esteroides, estrógeno y progesterona durante la esteroidogénesis; así mismo destacaron que la concentración de colesterol sérico fue mucho más alta que en el fluido de los folículos de cualquier tamaño.

Por lo contrario, un estudio más reciente en esta misma especie no encontró diferencias significativas de colesterol en el fluido folicular para 3 diferentes tamaños de folículos (El-Bahr *et al.*, 2015). De modo que el tamaño folicular aparentemente tampoco tendría mayor efecto sobre los niveles de colesterol folicular

Triglicéridos

Los triglicéridos son considerados la forma de almacenamiento de los lípidos, su hidrólisis produce una molécula de glicerol y tres moléculas de ácidos grasos, que son la energía necesaria para el desarrollo folicular. Los niveles de triglicéridos encontrados en los grupos de crecimiento, estática y regresión son 11.3, 12.35, 10.78 mg/dl, respectivamente, no presentando diferencia significativa entre estadios, de modo que el contenido de triglicérido no cambiaría con el desarrollo folicular

Los resultados encontrados son inferiores a los reportados por Coila *et al* (2011), 17.91 y 14.91 mg/dl, para folículos pequeños y medianos, respectivamente; mientras que aparentemente son similares para los folículos grandes (12 mg/dl), esto se explicaría debido a que el fluido folicular de los folículos de mayor tamaño también provendrían de folículos dominantes.

Huanca *et al* (2017), reportó valores de 3.94, 3.16 mg/dl, para folículos >7mm utilizando como inductor de ovulación al PS y GnRH, respectivamente. No encontrando diferencia significativa

En camellos iraníes, Albomohsen *et al* (2011) notaron que la concentración sérica de triglicéridos (34.3 mg/dl) fue significativamente mayor que el nivel hallado en folículos pequeños (31.3 mg /dL) y grandes (17.8 mg/dl). Así mismo los niveles de triglicéridos en los folículos grandes son significativamente menores que los folículos pequeños. La diferencia en la concentración de triglicéridos puede explicarse por el hecho de que los triglicéridos probablemente no pasan a través de la membrana folicular porque son transportados por las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), que son demasiado grandes para pasar la barrera hemato- folicular (Shalgi *et al.*, 1973, Volpe *et al.*, 1991).

Por otro lado, Leroy *et al* (2004) observaron que la concentración de este metabolito en el líquido folicular aumentó en un 43% a medida que el tamaño del folículo aumentó de pequeño (<4 mm) a grande (> 10 mm) en las vacas lecheras. La discrepancia con las otras investigaciones se debería a que son diferentes especies.

VI. CONCLUSIONES

- Existen diferencia significativa en los niveles de glucosa entre los estadios de estática y regresión, siendo menor el valor en regresión.
- No existen diferencias significativas en los niveles de proteína total, albúmina, triglicéridos y colesterol entre los estadios de desarrollo folicular
- Se observó una tendencia de disminución del colesterol folicular al pasar del estadio de estática a regresión; pero no llegó a ser significativa.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. **Aba M, Sumar J, Kindahl H, Forsberg M, Edqvist L. 1998.** “Plasma concentrations of 15-ketodihydro-PGF (2-alpha), progesterone, estrone sulfate, estradiol -17-beta and cortisol during late-gestation, parturition and the the early postpartum period in llamas and alpacas”. *Animal Reproduction Science*. 50, 111-121.
2. **Aba M. A. 2014.** *Anatomy and Physiology of reproduction in the Female Llama and Alpaca. Llama and alpaca care. Part: 3 Reproduction. Edition 1. Copyright © 2014 by Saunders, an imprint of Elsevier Inc. Philadelphia, PA, USA, 140-146.*
3. **Adams GP, Griffin PG, Ginther OJ. 1989.** *In situ* morphologic dynamics of ovaries, uterus, and cervix in llamas. *J Biol Reprod*. 41(3): 551–558.
4. **Adams GP, Sumar J, Ginther OJ. 1990.** Effects of lacational and reproductive status on ovarian follicular waves in llama (*Lama glama*). *J Reprod Fertil*. 90: 535–545.
5. **Adams GP, 1999.** Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. *J. Reprod. Fertil. Suppl*. 54: 17-32.
6. **Adams GP, Ratto MH, 2001.** Reproductive biotechnology in South American Camelids. *Rev. Inv.Vet. Perú. Supple*. 1: 134 -141.
7. **Albomohsen H, Mamouei M, Tabatabaei S, Fayazi J. 2011.** Metabolic composition variations of follicular fluid and blood serum in Iranian Dromedary Camels during the peak breeding season. *J of Anim. and Vet. Adv*. 10(3): 327-331.

8. **Ali, S., Ahmad, N., Akhtar, N., Zia-ur-Rahman, Noakes, D.E. 2008.** “Metabolite contents of blood serum and fluid from small and largesized follicles in dromedary camels during the peak and the lowbreeding seasons”. Anim. Reprod. Sci. 108, 446–456.
9. **Arthur GH, Noakes DE, Pearson H. 1991.** Reproducción y obstetricia veterinaria. 6ª ed. Madrid: McGraw-Hill. 150 p.
10. **Bourke, D.; Adam, C.; Kyle, C. 1992.** Ultrasonography as an aid to controlled breeding in the llama (*Lama glama*). Vet. Rec. 130: 424 – 428.
11. **Brantmeier SA, Grummer RR, Ax RL. 1987.** Concentrations of high density lipoproteins vary among follicular sizes in the bovine. J. Dairy Sci. 70:2145-2149.
12. **Bravo PW, Sumar J. 1989.** Laparoscopic examination of the ovarian activity in alpacas. Anim Reprod Sci. 21: 271 – 281.
13. **Bravo PW, Fowler ME, Stabenfeldt GH, Lasley BL. 1990a.** Ovarian follicular dynamics in the llama. Biology Reproduction. 43(4): 579-585.
14. **Bravo PW, Fowler ME, Stabenfeldt GH, Lasley BL. 1990b.** Endocrine responses in the llama to cópulation. Theriogenology. 33 (4): 891-899.
15. **Bravo PW, Stabenfeldt GH, Lasley BL, Fowler ME. 1991.** “The effect of ovarian follicle size on pituitary and ovarian responses to cópulation in domesticated South American camelids”. Biol Reprod. 45: 553 – 559.
16. **Bravo PW, Stabenfeldt GH, Fowler ME, Lasley BL. 1992.** Pituitary response to repeated cópulation and or Gonadotropin-Releasing Hormone administration in llamas and alpacas. Biol. Reprod. 47(5): 884-888.
17. **Bravo PW, Varela M. 1993.** Prenatal development of the alpaca (*Lama pacos*). Anim Reprod Sci. 32: 245 – 252.
18. **Bravo PW, Fowler M, Lasley B. 1994.** The postpartum llama: fertility after parturitium. Biol. Reprod. 51: 1084-1087.
19. **Bravo PW, Flores U, Garnica J, Ordoñez C. 1997.** Collection of semen and artificial insemination of alpacas. Therionology 47: 619 – 626.
20. **Bravo PW, Skidmore J, Zhao X. 2000.** Reproductive aspects and storage of semen in Camelidae. Anim Reprod Sci. 62: 173-193.
21. **Bravo PW, Moscoso, R.; Alarcon, V.; Ordóñez, C. 2002.** Ejaculatory process and related semen characteristics. Archives of Andrology. 48: 65-72.

22. **Bravo Z, Valdivia M. 2018.** Follicular fluid stimulates capacitation and acrosome reaction in alpaca sperm (*Vicugna pacos*). *Reprod Domest Anim.* 53(3): 624-635.
23. **Brooks J, McNeilly A. 1996.** Regulation of gonadotrophin-releasing hormone receptor expression in the ewe. *Anim Reprod Sci.* 42:89-98.
24. **Brown B. 2000.** A review on reproduction in South American camelids. *Anim Reprod Sci.* 58(3-4): 169-195.
25. **Buckrell BC, Bonnett BN, Johnson WH. 1986.** The use of real-time ultrasound rectally for early pregnancy diagnosis in sheep. *Theriogenology.* 25: 665-673.
26. **Chaves MG, Aba MA, Agüero A, Egey J, Berestin V, Rutter B. 2002.** Ovarian follicular wave pattern and the effect of exogenous progesterone on follicular activity in non-mated llamas. *Animal Reproduction Sci.* 69: 37-46.
27. **Clarke HG, Hope SA, Byers S, Rodgers RJ. 2006.** Formation of ovarian follicular fluid may be due to the osmotic potential of large glycosaminoglycans and proteoglycans. *Reproduction.* 132:119–31.
28. **Coila P, Pacheco J, Olivera M. 2011.** Caracterización bioquímica del líquido folicular de alpacas según su grado de maduración. *Fac. Med. Vet. y Zoot, Universidad Nacional del Altiplano, Puno, Perú.* Instituto de; Investigación y Promoción de Camélidos Sudamericanos (IIPC), Puno, Perú; Memorias de la XXII Reunión ALPA, Montevideo, Uruguay.
29. **Collins A, Palmer E, Jacqueline B, Jean B, Duchamp G, Buckley T. 1997.** A comparison of the biochemical composition of equine follicular fluid and serum at four different stages of the follicular cycle. *Equine Vet. J.* 25: 12–16.
30. **Conaway CH. 1971.** Ecological adaptation and mammalian reproduction. *Biol Reprod* 4(3): 239-247.
31. **Del Campo M, Del Campo C, Donoso M, Ginther O. 1996.** Recuperación y morfología de ovocitos en llamas (*Lama glama*). I Congreso Mundial sobre camélidos. Cajamarca-Perú. p.7.
32. **Duran G, Rosales AM, Hicks JJ. 1997.** Participación del líquido folicular en el desarrollo del folículo, la maduración del ovocito y la función espermática. *Ginecol. Obstet. Méx.,* 65(8): 349-56.
33. **Edwards RG. 1974.** Follicular fluid. *J Reprod Fert.* 37: 189-219
34. **Eisenbach M. 1999.** Mammalian sperm chemotaxis and its association with capacitation. *Dev Genet.* 25:87-94.

35. ***El-Bahr SM, Ghoneim IM, Waheed MM. 2015.*** Biochemical and hormonal analysis of follicular fluid and serum of female dromedary camels (*Camelus dromedarius*) with different sized ovarian follicles. *Anim. Reprod Sci.* 159: 98–103
36. ***El-Shahat KH, Abo-El Maaty AM, Moawad AR, 2013.*** Follicular fluid composition in relation to follicular size in pregnant and non-pregnant dromedary camels (*Camelus dromedarius*). *Anim.Reprod Sci.* 10: 16–23.
37. ***El Wishy AB. 1998.*** Reproduction in the male dromedary (*Camelus dromedaries*): A review. *Anim Reprod Sci.* 17: 217-241.
38. ***Endresen MJ, Haug E, Abyholm T, Henriksen T. 1990.*** The source of cholesterol for progesterone synthesis in cultured preovulatory human granulosa cells. *Acta Endocrinol (Copenh).* 123: 359–64.
39. ***England BG, Foote WC, Cardozo AG, Matthews DH, Riera S. 1971.*** Oestrus and mating behavior in the llama (*Lama glama*). *Anim. Behav.* 19: 722-726.
40. ***Fahiminiya S, Gérard N. 2010.*** Follicular Fluid in mammals. *Gynecol Obstet Fertil.* 38:402-404
41. ***[FAO]. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 2005.*** “Proyecto de Cooperación Técnica en apoyo a la crianza y aprovechamiento de los Camélidos Sudamericanos en la Región Andina TCP/RLA/2914: Situación actual de los camélidos sudamericanos en Perú”. 62p.
42. ***Fernández-Baca S, Madden DH, Novoa C. 1970.*** “Effect of different mating stimuli on induction of ovulation in the alpaca”. *J Reprod Fert.* 22: 261-267.
43. ***Fernández-Baca S. 1971.*** La Alpaca. Reproducción y crianza. Boletín N° 7. IVITA. UNMSM. Lima. 43 pp.
44. ***Fernández-Baca S, Novoa C, Sumar J. 1972a.*** Actividad reproductiva en la alpaca mantenida en separación del macho. En: *Mem. ALPA.* 7: 7-18.
45. ***Fernández-Baca S, Sumar J, Novoa C. 1972b.*** Comportamiento sexual de la alpaca macho frente a la renovación de las hembras. En: *Rev Inv Pec IVITA Univ San Marcos.* 1:115–128.
46. ***Fernández-Baca S, Novoa C, Sumar J. 1974.*** “Pubertad en alpacas”. *Avances de Investigación. Bol. de Div. N° 15 IVITA UNMSM.* Lima-Perú. pp: 129-138.
47. ***Fernández-Baca S. 1991.*** “Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos”. *FAO. ONU. Chile.* p 1-3.

48. **Fernández-Baca S. 1993.** “Manipulation of reproductive functions in male and female” New World camelids. *Animal Reprod Sci.* 33:307-323.
49. **Ferrer MS, Agüero A, Chaves MG, Russo AF, Rutter B. 2002.** Sincronización de la onda folicular mediante el uso de buserelina en la llama (*Lama glama*). En: *Sitio Argentino de Producción Animal.* 4(1): 7-11.
50. **Franco E.; Sumar J.; Varela M. 1981.** Eyaculación en la alpaca (*Lama pacos*). IV Convención Internacional sobre Camélidos Sudamericanos. Corporación Nacional Forestal. Instituto de la Patagonia, Chile, Punta Arenas, 22-27 de noviembre.
51. **Gérard N, Loiseau S, Duchamp G, Seguin F. 2002.** Analysis of the variations of follicular fluid composition during follicular growth and maturation in the mare using proton nuclear magnetic resonance (1HNMR). *Reproduction* 124:241–248.
52. **Guerreiro TM, Gonçalves RF, Melo CFOR, de Oliveira DN, Lima EO, Visintin, JA, de Achilles MA, Catharino R.R, 2018.** A Metabolomic Overview of Follicular Fluid in Cows. *Front. Vet. Sci.* 5, 10.
53. **Ghoneim IM, Waheed MM, El-Bahr SM, Al-heider A, Al-Eknaah MM. 2013.** Comparison of some biochemical and hormonal constituents of oversized follicles and preovulatory follicles in camels (*Camelus dromedarius*). *Theriogenology.* 79: 647–652.
54. **Gigli I, Russo A, Agüero A. 2006.** Consideraciones sobre la dinámica ovárica en equino, bovino y camélidos sudamericanos. *InVet.* 8(1): 183–204.
55. **Gibory G, Millar J. 1982.** The Ovary: follicle development, ovulation and luteal function. In: *Biochemistry of mammalian reproduction.* Zeneveld, L. and Chatterton, R. Willey Interscience.
56. **Gode F, Gulekli B, Dogan E, Korhan P, Dogan S, Bige O, Cimri D, Atabey N, 2011.** Influence of follicular fluid GDF9 and BMP15 on embryo quality. *Fertil. Steril.* 95:2274–2278.
57. **González-Bulnes A, Moreno JS, García LM, Gomez BA, Lopez SA. 1994.** Observación del ovario en la oveja y eficacia en la detección de folículos y cuerpos lúteos mediante ecografía transrectal. *Invest Agr Prod Sanid Anim.* 9:319–329.
58. **Gore-Langton R., Armstrong D. 1994.** “Follicular steroidogenesis and its control”. En: *The Physiology of reproduction.* 2nd ed. Edit. Knobil and J. Nelly. Raven Press. New York. Chapter 11. p. 571-628.

59. **Gosden, RG, Laing SC, Flurkey K, Finch CE. 1983.** Graafian follicle growth and replacement in anovulatory ovaries of ageing C57BL/6J mice. *J Reprod Fert.* 69:453-462.
60. **Gosden RG, Hunter RH, Telfer E, Torrance C, Brown N. 1988.** Physiological factors underlying the formation of ovarian follicular fluid. *J Reprod Fert.* 82:813-825.
61. **Goldenberg, R.L., Vaitukaitis, J.L. & Ross, G.T. 1972.** Estrogen and follicle stimulating hormone interactions on follicle growth in rats. *Endocrinology* 90, 1492-1498.
62. **Hafez ESE, Hafez B. 2002.** Reproducción e inseminación artificial en animales. 7ª ed. Madrid: McGraw Hill. 519 p.
63. **Hong CY, Chao HT, Lee SL, Wei YH. 1993.** Modification of human sperm function by human follicular fluid: a review. *Int J Androl.* 16:93-6.
64. **Huanca W, Cárdenas O, Olazábal C, Ratto M, Adams G. 2001.** Efecto hormonal y empadre sobre el intervalo a la ovulación en llamas. *Rev Inv Vet Perú. Supl 1:*462-463.
65. **Huanca W, Castro A, Gomez N, Cordero A. 2017.** Biochemical composition of follicular fluid in relation to the stimulus to induce ovulation in alpacas (*Vicugna pacos*). *Reproduction, Fertility and Development.* 29(1): 164-164.
66. **Illera, M. 1994.** “Reproducción de los animales domésticos”. Barcelona: Aedos. 390 p.
67. **Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI). 2013.** Resultados Definitivos. IV Censo Nacional Agropecuario. Ministerio de Agricultura. Lima-Perú. Pg. 18.
68. **Kinder J, Day M, Kittok R. 1987.** “Endocrine regulation of puberty in cows and ewes”. *J Reprod Fertil Suppl.* 34:167-86
69. **Knight TW, Death A, Wyeth T, Hill F. 1992.** Effects of GnRH and of single versus multiple mating on the conception rate in alpacas. *Proc. N.Z. Soc Anim Prod.* 52:311-312.
70. **Landoua S, Braw-Tal R, Kaim M, Bor A, Bruckentaf I. 2000.** Preovulatory follicular status and diet affect the insulin and glucose contents of follicles in high-yielding dairy cows. *Anim Reprod Sci.* 64:181-197.
71. **Leese HJ, Lenton EA. 1990.** Glucose and lactate in human follicular fluid concentrations and interrelationships. *Hum Reprod.* 5:915-919
72. **Leroy J, Vanholder T, Delanghe JR, Opsomer G, Van Soom A, Bols PE, de Kruif A. 2004.** Metabolite and ionic composition of follicular fluid from different sized follicles and their relationship to serum concentrations in dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 80, 201-211.
73. **Leyva, V. 1996.** “Follicular activity and ovulation of ewes during the breeding season and anestrus”. Tesis PhD. Univ. Guelph, Canada.

74. **Martínez MF, Adams GO, Kastelic JP, Bergfel DR, Mapletoft RJ. 2000.** Induction of follicular wave emergence for estrus synchronization and artificial insemination in heifers. *Theriogenology* 54(5): 757-769.
75. **Matoba S, Bender K, Fahey AG, Mamo S, Brennan L, Lonergan P. 2014.** Predictive value of bovine follicular components as markers of oocyte developmental potential. *Reprod Fertil Dev.* 26(2):337-45.
76. **McNatty KP. 1978.** Follicular fluid. In: Jones RE, editor. *The vertebrate ovary: comparative biology and evolution.* New York: Plenum Press; pp. 215–59.
77. **McNatty KP, Smith DM, Makris A, Osathanondh R, Ryan KJ. 1979.** “The microenvironment of the human antral follicle: interrelationships among the steroid levels in the antral fluid, the population of granulosa cells and the status of the oocyte in vivo and in vitro”. *J Clin Endocrinol Metab.* 49:851-860.
78. **Mengoni GL. 2008.** Camelids in ancient Andean societies: a review of the zooarchaeological evidence. *Quaternary International.* 185: 59-68.
79. **[MINAGRI] Ministerio de agricultura y Riego. 2013.** Perú es el mayor productor de fibra de alpaca en el mundo. [INTERNET], [04 Agosto 2017]. Disponible en: <http://minagri.gob.pe/portal/noticias-anteriores/notas-2017/19720-peru-es-el-mayor-productor-de-fibra-de-alpaca-en-el-mundo>.
80. **Miragaya MH, Aba MA, Capdevielle EF, Ferrer MS, Chaves MG, Rutter B, Agüero A. 2004.** “Follicular activity and hormonal secretory profile in vicuña (*Vicugna vicugna*)”. *Theriogenology.* 61:663-671.
81. **Monniaux D, Caraty A, Clement F, Dalbès-Tran R, Dupont J, Fabre S, Gérard N, Mermillod P, Monget P, Uzbekova S. 2009.** Ovarian follicular development and ovulation in mammals. *Inra Prod Anim.* 22:59-76.
82. **Nandi S, Kumar VG, Manjunatha B, Gupta P. 2007.** Biochemical composition of ovine follicular fluid in relation to follicle size. *Dev Growth Differ* 49(1):61–66.
83. **Navidi, W. 2006.** Estadística para ingenieros y científicos. México: McGraw-Hill Interamericana. p. 623-659.
84. **Novoa C, 1970.** “Reproduction in the camelidae”. *J. Reprod. Fert.* 22:3-20.
85. **Novoa C, Fernández-Baça S. Sumar J. Leyva V. 1972.** “Pubertad en la Alpaca”. *Rev Inv Vet.* 1: 29-35

86. **Novoa C, 1989.** Reproducción. In: Simposio de producción de alpacas y llamas. XII Reunión Científica Anual. APPA. Perú. p. 67-72.
87. **Novoa C. 1991.** Fisiología de la reproducción de la hembra; En: Fernández-Baca S. editor. Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos. Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Santiago de Chile. 428: 91-110.
88. **Novoa C, Leyva V. 1996.** Reproducción en alpacas y llamas. Publicación científica. IVITA. 26(30): 3-18.
89. **Novoa C.; Franco E.; García W.; Pezo D. 1999.** Dosis de gonadotropinas (eCG y hCG), superovulación y obtención de embriones en alpacas. Rev In Vet. 10 (1):48-53.
90. **Olazabal J.; Gonzales R.; San Martín F. 2015.** Niveles de glucose y nitrogeno ureico sérico en alpacas. VII Congreso Mundial de Camélidos Sudamericanos Puno. Libro de resúmenes.
91. **Pacheco J.; Coila P. 2007.** Composición del fluido folicular de alpaca (*Vicugna pacos*) en diferentes estadios de desarrollo. Archivos de Zootecnia. 59 (227): 451-454.
92. **Parraguez VH, Adams GP, Ratto M, Ragui LA. 2010.** Camelids. In: Willey-Blackwell, editor. Practical Atlas of Ruminant and Camelid Reproductive Ultrasonography. 1° edition. USA. p. 211–223.
93. **Pineda MH. 1989.** Female Reproductive System. In: McDonald LE, editor. Veterinary Endocrinology and Reproduction. Fourth Edition. Washington: Lea y Febiger Company. p. 261–302.
94. **Pollard J, Littlejohn R, Moore G. 1999.** Season al and other factors affecting the sexual behavior of alpacas. Anim Reprod Sci. 37:349-356.
95. **Rahman ZU, Bukhari SA, Ahmad N, Akhtar N, Ijaz A, Yousaf MS, Haq IU. 2008.** Dynamics of follicular fluid in one-humped camel (*Camelus dromedarius*). Reprod Domest Anim. 43:664-671.
96. **Ratto M, Singh J, Huanca W, Adams G. 2003.** Ovarian follicular wave synchronization and pregnancy rate after fixed-time natural mating in llamas. Theriogenology. 60(9):1645-1656.
97. **Ratto M, Huanca W, Singh J, Adams G. 2006.** Comparison of the effect of natural mating, LH and GnRH on interval to ovulation and luteal function in llamas. Anim Reprod Sci. 91: 229-306.
98. **Riveros J., S.Gerhard, B. Cristian, H. Bend, G. Chaves, y B. Urquieta. 2010.** Dinámica folicular ovárica y los perfiles de secreción hormonal en guanacos (*Lama guanicoe*) Anim Repro Sci. 119: 63-67

99. **San-Martin M, Copaira M, Zuniga J, Rodreguez R, Bustinza G, Acosta L. 1968.** “Aspects of reproduction in the alpaca”. J Reprod Fertil 16(3):395-399.
100. **Sato A, Valencia R, Montoya L. 1986.** “Revisión anatómica del aparato reproductor de la alpaca hembra (*Lama pacos*)”. Rev Camelidos Sudamericanos 2:4-8
101. **Sato A. y Montoya L. 1990.** Aparato reproductor de la alpaca (*Lama pacos*): Anatomía macroscópica. Rev Camélidos Sudamericanos. 7-13.
102. **Savio, JD, Thatcher WW, Morris GR, Entwistle K, Drost M, Mattiacci MR. 1993.** “Effects of induction of low plasma progesterone concentrations with a progesterone-releasing intravaginal device on follicular turnover and fertility in cattle”. J Reprod Fertil. 98:77–84.
103. **Schmidt, CR., 1973.** Breeding season and notes on some other aspects of reproduction in captive camelids. Int Zool. Yearbook. 13:387-390.
104. **Senger PL. 2005.** Pathways to pregnancy and parturition. Ed.2. USA: Current Conceptions. 373 p.
105. **Shalgi R, Kraiser P, Rimon A, Pinto M, Soferman N. 1973.** Proteins of human follicular fluid: the blood follicular barrier. Fertil Steril. 24: 429.
106. **Skidmore JA, Billah M, Allen WR. 1995.** The ovarian follicular wave pattern in the mated and non-mated dromedary camel (*Camelus dromedarius*). J. Reprod Fertil. 49:545-548.
107. **Smith TM. 1985.** “Reproduction in South American Camelids”. Iowa State Univ Vet. 47:110-115.
108. **Smith CL, Meter AT, Pugh DG. 1994.** “Reproduction in llamas and alpacas”: A review. Theriogenology. 41: 573-592.
109. **Stevenson, J. 1997.** “Clinical reproductive physiology of the cow. In: Current Therapy in large animal”. Theriogenology. Edit by Younquist, R. Vol I. Saunders Company Phyladelphia. p. 257-267.
110. **Stevenson JS. 2007.** “Clinical reproductive physiology of the cow”. En: Current Therapy in Large Animal Theriogenology. 2° ed. USA. Elsevier. p 258-270.
111. **Sumar J. 1985.** Reproductive physiology in South American Camelids. En: Instituto Veterinario de Investigación Tropical y de Altura (IVITA). p 81–95.
112. **Sumar J y García M. 1986.** “Fisiología de la reproducción de la alpaca”. In: Nuclear and Related Techniques in Animal Production and Health. IAEA. Viena p. 149-177.
113. **Sumar J. 1989.** “Anatomía ultrasónica del aparato genital de la alpaca hembra”. En: Resum XII Reunión Cient Anu Asoc Peruana Prod Anim. Perú. Lima. p. 65.

114. **Sumar J. 1993a.** Efectos de los estímulos de inducción en la ovulación de alpacas y de llamas. *Rev. Pec. Inv. IVITA. Perú* 6(1):17-21.
115. **Sumar J, Bravo PW, Foote WC. 1993b.** “Sexual receptivity and time of ovulation in alpacas”. *Small Ruminant Research.* 11:143-150.
116. **Sumar J. 1996.** Reproduction in llamas and alpacas. *Anim Reprod Sci.* 42: 405- 415
117. **Sumar J. 1997a.** Avances y perspectivas en reproducción de camélidos. En: *Memorias I Simposium Internacional: Avances en Reproducción de Rumiantes.* Lima-Perú. p: 30-44.
118. **Sumar, J.B., Adams, G., 1997b.** Reproductive anatomy and physiology of the female llama. In: Youngquist, R.S. (Ed.), *Current Therapy in Large Animal Theriogenology.* WB Saunders, Philadelphia, USA, pp. 792–798
119. **Sumar J. 2000.** “Llamas and alpacas. In: *Reproduction in farm Animals*”. Seventh Edition. E.S.E. Hafez, B. Hafez.
120. **Sumar J. 2007.** Realidades y mitos sobre los camélidos sudamericanos. En: XX Reunión ALPA. XXX. Reunión APPA-Cuzco-Perú: Asociación Latinoamericana de Producción Animal – Asociación Peruana de Producción Animal. p. 211-214.
121. **Tabatabaei S, Mamoei M, Aghaei A, 2011.** Dynamics of ovarian follicular fluid in cattle. *Comp Clin Pathol*, 20, 591---595.
122. **Tibary A., Memon M.A., 1999.** Reproductive physiology in the female South American camelidae 6: 217-233.
123. **Tibary A. 2001.** Fertilization, embryo and fetal development in camelids. In: *Proceedings of the Annual Conference of the Society for Theriogenology, Vancouver, BC, Canada, 12- 15 September.* p. 387-396.
124. **Vaughan J. 2001.** “Control of ovarian follicular growth in the alpaca (*Lama pacos*)”. Tesis doctoral. Australia: Central Queensland University.
125. **Vaughan JL, Macmillan KL, Anderson GA, D’Occhio MJ, 2003.** “Effects of mating behaviour and the ovarian follicular state of female alpacas on conception”. *Aust. Vet. J.* 81: 86-90.
126. **Vaughan JL, Macmillan KL, D’Occhio MJ. 2004.** “Ovarian follicular wave characteristics in alpacas”. *J Anim Reprod Sci* 80:353-361.
127. **Vaughan JL, Tibary A. 2006.** Reproduction in female South American camelids: A review and clinical observations, *Small Rumin Res* 61:259-281.

128. **Vencato J. 2014.** Novel approaches in andrology examination and follicular fluid biochemical characterization in the optimization of reproductive technologies in farm animals. Tesis de Doctorado. Italia. Univ. degli studi di padova. 143p.
129. **Visconti PE, Bailey JL, Moore GD, Pan D, Olds-Clarke P, Kopf G S. 1995.** Capacitation of mouse spermatozoa. I. Correlation between the capacitation state and protein tyrosine phosphorylation. *Development*. 121(4): 1129–1137.
130. **Vivanco W, Cárdenas H, Bindon B. 1985.** “Relación entre la duración de la cópula y momento de ovulación en alpacas”. En: *Resum XII Reunión Cient Anu Asoc Peruana Prod Anim*. Perú Lima. p.19.
131. **Volpe A, Coukos G, Uccelli E, Droghini F, Adamo R, Artini PG. 1991.** Follicular fluid lipoproteins in preovulatory period and their relationship with follicular maturation and progesterone production by human granulosa-luteal cells in vivo and in vitro. *J Endocrinol Invest*. 14:737-742.
132. **Wallace M, Cottell E, Gibney MJ, McAuliffe FM, Wingfield M, Brennan L, 2012.** An investigation into the relationship between the metabolic profile of follicular fluid, oocyte developmental potential, and implantation outcome. *Fertil Steril* 97 (5), 1078---1084.
133. **Wheeler JC, Russela AJF, Redden H. 1995.** Llamas and Alpacas: Pre-conquest breeds and post-conquest hybrids. *J Archaeol Sci*. 22: 833-840.
134. **Wheeler JC. 2006.** Capítulo 3: Historia Natural de la Vicuña. En: *Investigación, conservación y manejo de las vicuñas – Proyecto MACS*. Vila, B. (ed). Proyecto MACS-Argentina-INCO- Unión Europea. Buenos Aires, 208 pp.
135. **Wise, T. 1987.** Biochemical analysis of bovine follicular fluid: albumin, total proteins, lysosomal enzymes, ions, steroid and ascorbic acid contents in relation to follicular size rank, atresia classification and day of o estrous cycle. *J Anim Sci*. 64:1153-1169.

VIII. APÉNDICE

Apéndice 1.- Diámetro folicular al realizar la aspiración del fluido folicular

N	ID	Estadio	Tamaño folicular	Observación
1	7	Crecimiento	8.7	
2	71	Crecimiento	8.5	
3	56	Crecimiento	7	
4	5	Crecimiento	7.4	
5	18	Crecimiento	11	
6	48	Crecimiento	10.3	
7	20	Crecimiento	9.5	
8	103	Crecimiento	7.8	
9	27	Crecimiento	7.5	
10	58	Estática	7.6	
11	54	Estática	8	
12	82	Estática	10.5	
13	43	Estática	12	
14	98	Estática	9.2	
15	86	Estática	8	
16	93	Estática	8.4	
17	94	Estática	9.2	

18	104	Estática	8	Contam. Sangre
19	26	Estática	8.7	
20	97	Regresión	7.8	
21	91	Regresión	8.2	
22	95	Regresión	9.5	
23	47	Regresión	7.3	
24	90	Regresión	8	
25	89	Regresión	7	
26	102	Regresión	7.2	
27	24	Regresión	10	
28	84	Regresión	9	

Apéndice 2.- Composición bioquímica del fluido folicular según estadio

Estadio de crecimiento

N	ID	Glucosa (mg/dL)	Proteína (g/dL)	Albumina (g/dL)	Colesterol (mg/dL)	Triglicéridos (mg/dL)
1	7	37.1007	1.7375	1.183	16.6002	5.9470
2	71	23.1907	1.5701	1.0729	15.2679	9.8750
3	56	33.5294	1.2691	1.1688	14.3789	10.3155
4	5	34.4970	1.6862	1.4717	4.4787	18.1714
5	18	40.2842	3.0384	1.689	31.8258	3.6343
6	48	38.0990	0.8193	0.4717	15.5575	11.3434
7	20	52.8473	2.099	1.2545	8.8761	11.0497
8	103	29.2831	1.5294	1.2088	13.7483	19.7867
9	27	44.5901	1.1806	0.7729	21.6559	11.6004

Estadio de estática

N	ID	Glucosa (mg/dL)	Proteína (g/dL)	Albumina (g/dL)	Colesterol (mg/dL)	Triglicéridos (mg/dL)
1	58	52.3899	1.6167	1.3644	17.2846	21.6942
2	54	32.2800	2.2446	2.0992	30.1114	6.4317
3	82	40.6440	0.9491	0.7486	12.8930	12.2481
4	43	28.4498	1.4813	1.2054	13.9483	8.7342
5	98	48.5934	2.6866	1.7267	18.9274	16.8132
6	86	56.8090	2.3621	1.4355	6.6002	4.0381
7	93	37.5010	1.2185	0.9828	15.0054	10.6064
8	94	30.5383	3.6095	2.1567	27.8150	11.5418
9	104	43.5238	1.2489	1.1406	22.1649	19.0892

Estadio de regresión

N	ID	Glucosa (mg/dL)	Proteína (g/dL)	Albumina (g/dL)	Colesterol (mg/dL)	Triglicéridos (mg/dL)
1	97	33.7888	4.015	2.5794	5.8341	12.0994
2	91	38.5718	1.6181	1.2098	12.3019	13.7133
3	95	28.2529	1.0382	0.818	15.2991	7.2170
4	47	17.4286	2.2163	1.365	7.0127	16.7323
5	90	36.2465	1.5991	1.4137	5.0090	13.4507
6	89	37.5429	1.4506	1.1357	8.5965	11.0451
7	102	25.1436	2.2935	1.7095	10.8250	4.5520
8	24	19.6018	0.7056	0.6834	13.3590	9.6975
9	84	34.0686	1.2442	0.9299	21.5239	8.5418

Apéndice 3.- Prueba de ANOVA para tamaño del folículo al momento de la aspiración

ANOVA

Tamaño Folicular

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2,650	2	1,325	,776	,472
Dentro de grupos	40,984	24	1,708		
Total	43,634	26			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Tamaño Folicular

HSD Tukey

(I) Estadio	(J) Estadio	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Crecimiento	Estática	-,35556	,61602	,833	-1,8939	1,1828
	Regresión	,41111	,61602	,784	-1,1273	1,9495
Estática	Crecimiento	,35556	,61602	,833	-1,1828	1,8939
	Regresión	,76667	,61602	,439	-,7717	2,3051
Regresión	Crecimiento	-,41111	,61602	,784	-1,9495	1,1273
	Estática	-,76667	,61602	,439	-2,3051	,7717

Tamaño Folicular

HSD Tukey^a

Estadio	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
Regresión	9	8,2222
Crecimiento	9	8,6333
Estática	9	8,9889
Sig.		,439

Apéndice 4.- Prueba de ANOVA para los componentes bioquímicos del fluido folicular

ANOVA

Glucosa

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	568,498	2	284,249	3,627	,042
Dentro de grupos	1881,054	24	78,377		
Total	2449,552	26			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Glucosa

HSD Tukey

(I) Estadio	(J) Estadio	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Crecimiento	Estática	-4,1453000	4,1733879	,588	-14,567448	6,276848
	Regresión	6,9751111	4,1733879	,237	-3,447037	17,397259
Estática	Crecimiento	4,1453000	4,1733879	,588	-6,276848	14,567448
	Regresión	11,1204111 *	4,1733879	,035	,698263	21,542559
Regresión	Crecimiento	-6,9751111	4,1733879	,237	-17,397259	3,447037
	Estática	-11,1204111 *	4,1733879	,035	-21,542559	-,698263

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Glucosa

HSD Tukey^a

Estadio	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Regresión	9	30,071722	
Crecimiento	9	37,046833	37,046833
Estática	9		41,192133
Sig.		,237	,588

ANOVA

Proteína

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,344	2	,172	,247	,783
Dentro de grupos	16,730	24	,697		
Total	17,074	26			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Proteína

HSD Tukey

(I) Estadio	(J) Estadio	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Crecimiento	Estática	-,2764111	,3935809	,764	-1,259296	,706473
	Regresión	-,1390000	,3935809	,934	-1,121884	,843884
Estática	Crecimiento	,2764111	,3935809	,764	-,706473	1,259296
	Regresión	,1374111	,3935809	,935	-,845473	1,120296
Regresión	Crecimiento	,1390000	,3935809	,934	-,843884	1,121884
	Estática	-,1374111	,3935809	,935	-1,120296	,845473

Proteína

HSD Tukey^a

Estadio	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
Crecimiento	9	1,658844
Regresión	9	1,797844
Estática	9	1,935256
Sig.		,764

ANOVA

Albúmina

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,371	2	,186	,812	,456
Dentro de grupos	5,488	24	,229		
Total	5,860	26			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Albúmina

HSD Tukey

(I) Estadio	(J) Estadio	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Crecimiento	Estática	-,2851778	,2254316	,428	-,848145	,277790
	Regresión	-,1723444	,2254316	,728	-,735312	,390623
Estática	Crecimiento	,2851778	,2254316	,428	-,277790	,848145
	Regresión	,1128333	,2254316	,872	-,450134	,675801
Regresión	Crecimiento	,1723444	,2254316	,728	-,390623	,735312
	Estática	-,1128333	,2254316	,872	-,675801	,450134

Albúmina

HSD Tukey^a

Estadio	N	Subconjunto para alfa = 0.05 1
Crecimiento	9	1,143700
Regresión	9	1,316044
Estática	9	1,428878
Sig.		,428

ANOVA

Colesterol

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	242,249	2	121,125	2,556	,099
Dentro de grupos	1137,471	24	47,395		
Total	1379,720	26			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Colesterol

HSD Tukey

(I) Estadio	(J) Estadio	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Crecimiento	Estática	-2,4845444	3,2453257	,727	-10,589054	5,619966
	Regresión	4,7364556	3,2453257	,328	-3,368054	12,840966
Estática	Crecimiento	2,4845444	3,2453257	,727	-5,619966	10,589054
	Regresión	7,2210000	3,2453257	,087	-,883510	15,325510
Regresión	Crecimiento	-4,7364556	3,2453257	,328	-12,840966	3,368054
	Estática	-7,2210000	3,2453257	,087	-15,325510	,883510

Colesterol

HSD Tukey^a

Estadio	N	Subconjunto para alfa = 0.05 1
Regresión	9	11,084578
Crecimiento	9	15,821033
Estática	9	18,305578
Sig.		,087

ANOVA

Triglicéridos

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	11,547	2	5,773	,233	,794
Dentro de grupos	593,997	24	24,750		
Total	605,543	26			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Triglicéridos

HSD Tukey

(I) Estadio	(J) Estadio	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Crecimiento	Estática	-1,0526111	2,3452018	,895	-6,909253	4,804031
	Regresión	,5193667	2,3452018	,973	-5,337275	6,376009
Estática	Crecimiento	1,0526111	2,3452018	,895	-4,804031	6,909253
	Regresión	1,5719778	2,3452018	,783	-4,284664	7,428620
Regresión	Crecimiento	-,5193667	2,3452018	,973	-6,376009	5,337275
	Estática	-1,5719778	2,3452018	,783	-7,428620	4,284664

Triglicéridos

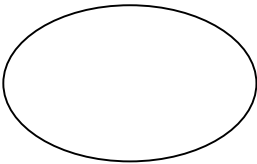
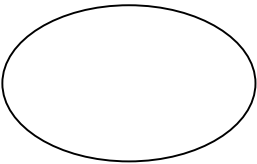
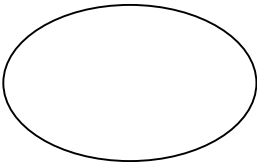
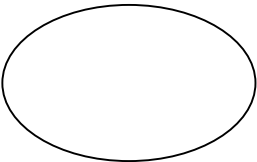
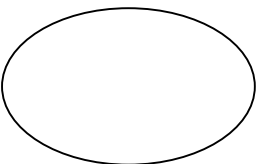
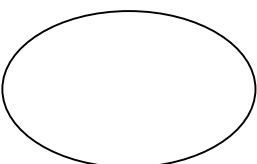
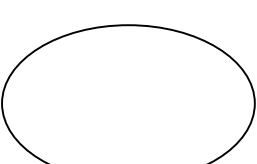
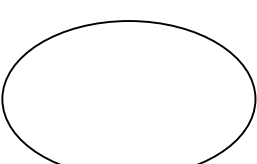
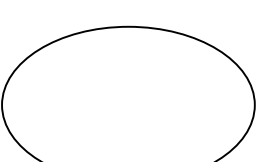
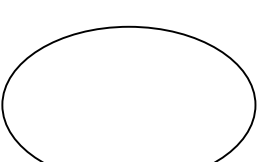
HSD Tukey^a

		Subconjunto para alfa = 0.05
Estadio	N	1
Regresión	9	10,783233
Crecimiento	9	11,302600
Estática	9	12,355211
Sig.		,783

Apéndice 5.- Ficha de registro ecográfico

Identificación:

Raza:

Fecha y hora	Ovario derecho	Ovario izquierdo	Observaciones
			
			
			
			
			

Apéndice 6.- Ficha de aspiración del fluido folicular

Identificación	Tamaño de folículo		Estadio de desarrollo folicular	Hora de Aspiración	Observaciones
	Ovario derecho	Ovario izquierdo			